

(2)

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平7-507472

第1部門第2区分

(43)公表日 平成7年(1995)8月24日

(51)Int.Cl.^a
A 61 B 10/00識別記号
T 8825-4C

F I

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 24 頁)

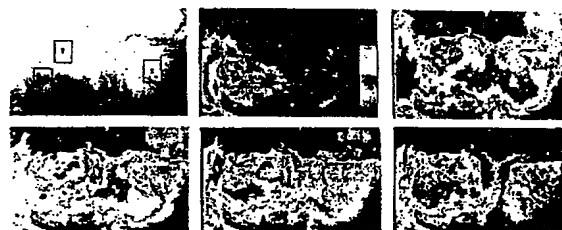
(21)出願番号	特願平6-501728
(86) (22)出願日	平成5年(1993)6月7日
(85)翻訳文提出日	平成6年(1994)12月8日
(86)国際出願番号	PCT/US93/05573
(87)国際公開番号	WO93/25141
(87)国際公開日	平成5年(1993)12月23日
(31)優先権主張番号	894,270
(32)優先日	1992年6月8日
(33)優先権主張国	米国(US)
(81)指定国	E P (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), AU, BR, CA, CZ, H U, JP, KR, RU

(71)出願人	ユニヴァーシティー オブ ワシントン アメリカ合衆国 ワシントン州 98195 シアトル メイル ストップ エックスデ イー-40 オフィース オブ テクノロジ ー トランスファー
(72)発明者	ハックマン ダリル アメリカ合衆国 ワシントン州 98020 エドモンズ エドモンズ ウェイ 22933
(72)発明者	ハグランド マイケル エム アメリカ合衆国 ワシントン州 98133 シアトル エヌ ワンハンドレッドナイン ティセブンス ブレイス 1647
(74)代理人	弁理士 杉村 晓秀 (外1名)

(54)【発明の名称】充実性腫瘍、皮質機能および神経撮像

(57)【要約】

本発明は注目部位に位置する充実性腫瘍組織の縁部、等級および大きさを撮像方法および装置を提供する。この方法および装置は染料により吸収される電磁放射線の波長を含む高強度の電磁放射線により注目部位を照射し、注目部位のビデオ信号を平均化制御像として得るとともにこの平均化制御像を処理して平均化制御フレームを得、注目部位に循環する血管内にボーラス注入により染料を導入し、注目部位の一連の次のフレームを次の像として時間に対して得るとともに各次の像を次のフレームとして処理し、各次のフレーム列と処理された平均化制御フレームとを比較して一連の差分像を得、且つ充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化吸収の初期証拠として各差分像を比較して、腫瘍組織が、充実性神経組織の増大血管および染料を正常な組織が迅速にクリアし得ないことにより、染料を一層迅速に吸収し得るようにする。



請求の範囲

1. 注目部位に位置する充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像するに当たり、
 (a) 染料により吸収される電磁放射線の波長を含む電磁放射線により注目部位を照射し、
 (b) 注目部位のビデオ信号をフレーム列として得るとともにこのフレーム列を処理して平均化された制御像を得、
 (c) 注目部位に循環する血管内にポーラス注入により染料を導入し、
 (d) 注目部位の一連の次のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、
 (e) 各々次のフレーム列と処理された平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ
 (f) 充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化した吸収の証拠として各差分像を比較して腫瘍組織が染料を一層迅速に吸収するとともに一層長く保持することを特徴とする充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

2. 前記染料を、インドシアニングリーン、ヘマトポルフィリン、フルオレセイン、フルオレスカミン、N.P., B.P.D.、エバンスブルー、およびその組合せより成る群から選択することを特徴とする請求項1に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

3. 各画素の変化速度および大きさは、

- (a) 染料により吸収される電磁放射線の波長に対し各画素のベースライン値を決め、
- (b) 染料を血管に注入し、
- (c) 電磁放射線の特定の波長に対し画素値の次の列を得、
- (d) 次の平均化像から第1平均化像フレームを差分的に合成して差分像を得、
- (e) この差分像をアナログ像に重畳すること、
 によって比較することを特徴とする請求項1に記載の充実性腫瘍組織の縁部お

- (c) 各々次の処理されたデジタル化画像データを第2フレームバッファに記憶する手段と、
 (d) 前記平均化制御像と前記第1および第2フレームバッファからの次の平均化像とを減算的に合成して第3フレームバッファに記憶される差分像を形成し、
 (e) 前記差分像を処理して全ダイナミック範囲に亘り像を伸張する手段と、
 (f) 前記差分像をカラー符号化する手段と、
 (g) 重量されたカラー符号化差分像を監視するモニタとを組みることを特徴とする請求項5に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

7. 腫瘍組織を撮像する装置は、

- (a) アナログビデオ信号を得る手段およびこのアナログビデオ信号を処理して平均化制御像又は次の像を得る手段と、
 (b) 多数の平均化像および平均化制御像を得るとともに解析して差分像を得、この差分像を処理して動きおよび聲音を計数し装置のダイナミック範囲を横切る変化を増幅する手段と、
 (c) 差分像のみ、またはアナログビデオ像上に重量された差分像を表示する手段とを組みることを特徴とする腫瘍組織撮像装置。

8. アナログビデオ信号を処理して平均化制御像または次の平均化像を得る手段は、

- (a) アナログビデオ信号をデジタル化し、且つこのデジタル化信号をある完全なダイナミック範囲に亘って処理する手段と、
 (b) 一連のフレームを平均化して平均化制御像を形成するとともにこの平均化制御像からのデータを第1フレームバッファに記憶する手段と、
 (c) 各々次の処理されたデジタル化画像データを第2フレームバッファに記憶する手段と、
 (d) 前記平均化制御像と前記第1および第2フレームバッファからの次の平均化像とを減算的に合成して第3フレームバッファに記憶される差分像を形成

より大きさを撮像する方法。

- 4. 患者の皮質の重要な機能領域および機能不全領域を光学的に撮像するに当たり、
 (a) 高強度の電磁放射線により注目部位を照射し、
 (b) 注目部位のビデオ信号をフレーム列として得るとともにこのフレーム列を処理して平均化された制御像を得、
 (c) 患者のパラダイムを注入して内在信号を刺激し、
 (d) 注目部位の一連の次のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、
 (e) 各々次の平均化像と平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ
 (f) 注目部位内の内在信号の証拠として各差分像を比較して内在信号が差分像の信号として表される反射特性の変化によって特徴付けられることを特徴とする充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

- 5. (a) アナログビデオ信号を得る手段およびこのアナログビデオ信号を処理して平均化制御像または次の平均化像を得る手段と、
 (b) 多数の平均化像および平均化制御像を得るとともに解析して差分像を得、この差分像を処理して動きおよび聲音を計数し装置のダイナミック範囲を横切る変化を増幅する手段と、
 (c) 差分像のみ、またはアナログビデオ像上に重量された差分像を表示する手段とを組み装置によって内在信号を検出することを特徴とする請求項4に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

- 6. アナログビデオ信号を処理して平均化制御像または次の平均化像を得る手段は、
 (a) アナログビデオ信号をデジタル化し、且つこのデジタル化信号をある完全なダイナミック範囲に亘って処理する手段と、
 (b) 一連のフレームを平均化して平均化像を形成するとともにこの平均化像フレームからのデータを第1フレームバッファに記憶する手段と、

し、

- (e) 前記差分像を処理して全ダイナミック範囲に亘り像を伸張する手段と、
 (f) 前記差分像をカラー符号化する手段と、
 (g) アナログビデオ像上に前記カラー符号化差分像を重量する手段およびこのカラー符号化差分像を監視するモニタとを組みることを特徴とする請求項7に記載の腫瘍組織撮像装置。

- 9. 前記比較ステップ(eおよびf)は少なくとも2つの像を差分的に合成してデジタル像を得る手段と見え、前記2つの像は機械的に変換することにより相互に空間的に変換することを特徴とする請求項7に記載の腫瘍組織撮像装置、または請求項5に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

- 10. 前記ステップ(d)および(e)は前記平均化制御像から次の平均化像を減算して第1差分像を得るとともにこの次の平均化像から前記平均化制御像を減算して第2差分像を得、且つこれら第1差分像および前記第2差分像を加算して増加したニューロン活動の領域および禁止されたニューロン活動の領域を示す和の差分像を形成することを特徴とする請求項8に記載の腫瘍組織撮像装置、または請求項6に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

11. 末梢神経又は脳神経に対する損傷を撮像するに当たり、

- (a) 損傷の疑わしき箇所およびその上流の領域を含む重要な末梢神経又は脳神経を負える注目部位を電磁波放射線で照射し、
 (b) 注目部位のビデオ信号を一連のフレームとして得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、
 (c) 損傷の疑わしき箇所の上流の箇所の末梢神経又は脳神経を刺激し、
 (d) 刺激時にフレームの次の列を得るとともにこれらフレームの次の列を処理して次の平均化像を得、
 (e) 次の平均化像から平均化制御像を減算して差分像を得て末梢神経又は脳神経の活性領域を撮像し、これにより、刺激された神経からの内在信号が急激

特表平7-507472 (3)

- に終端するか、または差分像に変換される神経の箇所に沿う点として神経ブロックを撮像することを前後とする末梢神経又は脳神経に対する損傷を撮像する方法。
12. 無損傷皮膚および／または骨の下側に位置する注目部位に位置する充実性腫瘍組織を撮像するに当たり、
(a) 注目部位を電磁放射線の赤外領域で照射し、
(b) 注目部位のビデオ信号を一連のフレームとして得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、
(c) 注目部位に施設する血管内にポーラス注入により染料を導入し、この染料が前記皮膚および骨組織を経て浸透し得る前記赤外スペクトルの領域の電磁波放射線を吸収し、
(d) 注目部位の一連のビデオ像を次のフレーム列として時間に対して得るとともにそれぞれ次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、
(e) 各々次のフレームと処理された平均化制御フレームとを比較して一連の差分像を得、且つ
(f) 充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化した吸収の証拠として各差分像を比較して腫瘍組織が染料を一層迅速に吸収するとともに一層長く保持することを特徴とする注目部位に位置する充実性腫瘍組織の撮像方法。
13. 各画素の吸収の変化度は、
(a) 染料により吸収される電磁放射線の波長に対し各画素のベースライン値を決め、(b) 染料を血管に注入し、
(c) 電磁放射線の特定の波長に対し画素値の次列を得、
(d) 次の像から第1平均像フレームを差分的に合成して差分像を得、
(e) この差分像をアナログ像に重畳すること、
によって比較することを特徴とする請求項12に記載の注目部位に位置する充実性腫瘍組織の撮像方法。

明細書

充実性腫瘍、皮質機能および神経撮像

発明の技術分野

本発明は充実性腫瘍組織の実時間検出方法並びに腫瘍組織を等級化し、且つ特微付ける方法に関するものである。

また、本発明は機能および機能不全大脳皮質および神経組織を実時間マッピングする方法に関するものである。

さらに本発明はかかる方法に対し実時間検出および光学的撮像を行う装置に関するものである。

発明の背景

神經外科の第1の目標は正常な領域を温存しながら異常な病理組織を完全に除去することである。従って神經外科医は病理組織または機能不全組織の境界を識別し、苦悶感、運動感および知覚感のような重要な機能をつかさどる皮質領域をマッピングすることを試みて、病理／機能不全組織を機能領域を除去することなく損失するようしている。

原発性の頭蓋内脳腫瘍の医療出現率は人口100万当たり50～150、または年間約18000である(Berens等、1980年)。この脳腫瘍のはば1/2は悪性である。成人の悪性脳腫瘍の出現は40～55歳台が圧倒的であり、一層良性な腫瘍の出現は35歳近辺がピークである。かかる腫瘍を処置する主な手段は外科的に除去することである。多くの研究によれば全腫瘍組織の大部を除去する場合には脳床転移(結果)が良好となる。腫瘍を全摘出する場合には5年生存率は腫瘍の部分的摘出に比べて2倍となる。患者の生存状態および復帰状態の両期間は、摘出の程度が悪性の神経膠腫で最大となる際に長くなる。現在の手術時の技術は、特に一旦腫瘍の摘出が開始されると、正常な脳組織から腫瘍組織を迅速に識別することはない。腫瘍組織を手術時に識別し得る可能性を増大する技術を開発することによって組織摘出の程度を最大にして生存を長引かせることができる。

米国では年間全身癌で死に至る500,000人のうちのはば25%、即ち、125,000

人以上は頭蓋内転移であると思われる。このグループにおける外科の初期病巣は広域または進行性癌を有していない單一病巣のこれら患者に存在する。しかし、このグループは転移患者のほぼ20～25% (30,000人)であり、外科手術で良好となる患者の実数の数は極めて僅かである。外科手術を行うこれら患者の半分は手術箇所におけるこれら腫瘍の局部再発であり、残りの半分は他の箇所に発生するものである。外科手術のほぼ50%が手術箇所で失敗すると云う事実は腫瘍除去中腫瘍の輪郭を出し、隠匿することによってできるだけ充分に腫瘍を除去する可能性が局部再発の発生率を確実に減少することを意味する。

これがため、原発性腫瘍および転移腫瘍の双方に対し、多くの腫瘍組織を摘出し、臨床転移(結果)が良好となり、生存が長くなる。さらに、切除の程度を最大とすることによって機能的に良好な品質の生存の長さが増大する。

最も最近の腫瘍撮像技術は腫瘍の位置に関する情報を外科手術前に得るようにしている。この外科手術前の撮像方法は磁気共鳴撮像法(MRI)およびコンピュータ断層撮影法(CT)を含む。手術室内では、手術時超音波および定位システムのみによって腫瘍の位置に関する情報を得ることができる。超音波システムによって体表面から腫瘍の位置を知ることができるが、一旦手術が開始されると、腫瘍組織を最大に除去しながら、重要な機能組織が破壊されるのを防止する情報を外科医に提供することはできない。進歩した撮像技術と結合する定位システムは(選ばれた数箇所の病院では)手術前CTまたはMRI走査に基づき腫瘍境界を限界し得るようにしている。しかし、撮像増大された准定の腫瘍が手術前の像に位置する箇所を越えて2～3cmに亘り実際の腫瘍が延在することは研究(Kelly, 1990年)により示されている。従って、腫瘍の位置を決める現在信頼性のある方法は外科手術中生検に送り(即ち、多組織サンプリングを行い)且つ凍結切片の顕微鏡結果を得ることである。この場合には外科手術中ブレークを連続的にとることを望まず、かかる生検が最もでも推測技術であり、サンプリング誤差を受け、およびほぼ一週間後に得られる永久の組織区分に比べ正しくない読み取りを行うようになる。これがため外科医は患者の脳床転移が腫瘍組織の横隔的な除去に依存する際の案内として推測技術にしばしば依存するようになる。外科医は横隔的に除去する組織と破壊する周囲の機能組織との境界を決めるのが困難

特表平7-507472 (4)

であり、1週間後までこの処置の実際の臨床転帰を知ることができず、これは何かの外科的手術を必要とする。

多重縫織サンプリングも幾つかの欠点を有する。第1に、患者が麻酔状態にある際の外科的措置に対し(取出したサンプルに依存して)ほぼ30~90分を追加することができるため、時間の掛かる措置である。第2に、術後者が短時間にサンプルを用意し評価するため、この措置に誤りが生じやすい。第3に、境界部サンプルが原発性腫瘍を囲む全ての領域を確実に評価しない場合がある。その理由は残存腫瘍のある区域がサンプリング誤差のため、ミスとなり得るからである。第4に、境界部サンプリングにかかる時間が増大すると、高価となる。その理由は手術室の時間コストが高くなり、ひいては全医療コストが増大するようになる。さらに、患者に対する手術室の時間が増大すると感染の可能性が増大する。

外科的手段中充実性腫瘍マスクの可視像を改善する他の技術は正常組織行う感性組織から可視ルミネッセンススペクトルの形状を決めることがある。米国特許第4,930,516号によれば、癌性組織では、正常な組織と比較して種々の異なるルミネッセンス強度のピークで背景に変色する。この方法によれば紫外(UV)光のビームで組織を励起するとともに組織から放出された可視自然ルミネッセンスと同一の組織型からの歴史的剖面とを比較する。掛かる措置は困難性を伴う。その理由は腫瘍組織の実時間空間マップを外科医の使用に供せないからである。さらに、励起波長に対し紫外光を用いることによって、正常なセルに対し光力学的変化を生ぜしめ得るようになり、手術室で使用するのは危険であり、組織に強く損傷し、ガラスの代わりに石英光学の素子を必要とする。

これがため、一度広範囲且つ迅速な技術を必要とし、しかもかかる技術を補助して充実性腫瘍の簡便を限局するとともに外科手術中実時間モードで正確な腫瘍組織をマッピングする装置を必要とする。かかる方法および装置は非観血的処置による任意の充実性腫瘍の高価な評価(例えば乳房造影法)に対しさらにも有効であり、腫瘍を等級化し、特徴付けることができる。

また、神経外科処置中端の機能を撮像する必要もある。例えば、これらの原理を例示する一種の脳外科処置は難治性てんかん(即ち、投薬により制御し得ないてんかん)の外科的処置である。現在、脳波検査(EEG)技術および皮質脳波

検査(ECOG)技術を外科手術前および中に用いて、てんかん病巣のような異常活動の区域を識別するようにしている。これらの手段によって脳の電気的な活動を直接測定するようにしている。

手術中のEEG技術には皮質の表面に電極アレイを設けることも含まれる。これはてんかん発作の発生の異常な皮質活動を限局するために試みられた。EEG技術が広く用いられるようになっても危険および制限がこれら技術に伴うようになる。電極表面の大きさおよびEEG技術における電極間の距離はてんかん病巣を有する脳セル(例えばニューロン)の大きさに対して大きくなる。これがため、現在の技術によって異常な皮質活動の区域の空間解像度(ほぼ1.0cm)が乏しくなる。更にEEG技術によっては(患者がスピーキングする際電気的活動を記録することによって言語機能、運動機能および知覚機能に専念する皮質領域を識別し得るような)外部刺激に応答して正常な皮質機能のマップを提供しない。皮質誘発電位と称されるこの技術の変形によってある機械的マッピングを提供することができる。しかし、この皮質誘発電位技術にはEEG技術と同様の解像度の問題がある。

てんかんおよび腫瘍外科手術における皮質機能の手術中機能の最も普通の方法は刺激電極によって皮質表面を直接電気的に刺激することである。この技術を用いることにより外科医は身体の特定の部分から観察された運動応答を誘発するかまたは覚醒した患者の場合には特定の感覚を発生させるか、または患者の音声出力に中断を生ぜしめることを試みる。さらにこの技術によればEEG技術と同様の問題が生じる。その理由はこれにより機能の粗い空間的極限のみを行くからである。

これら技術全部の不正確さの可能な結果は、患者の難治性てんかんに対し応答可能な皮質の部分を識別するために用いる熱、皮質組織の必要以上の量が確実に除去されて機能欠陥患者ができるか、または組織が充分に除去されないで外科手術により治療しない患者ができるようになる。これらの不適切にもかかわらず、かかる技術は難治性てんかんに対する許容し得る処理であると思われている。しかし、同様の原理を腫瘍の外科手術に適用しても手術中の機能マッピングを日常的に行う訳にはいかない。

過去数年来、研究者は動物モデルにかかる撮像技術を用いて高い空間的解像度で皮質の機能領域を撮像するようにしている。かかる技術の1つの型のものは電圧-感応染料を用いる。この電圧-感応染料はニューロンセルの電気的活動の変化中にその光学特性が変化する染料である。これら技術によって達成される空間解像度は単一セルレベルに近い。ブレッセル(Blasdel)およびサラマ(Salama)(ネイチャ321:579, 1986年)は電圧-感応染料を用いて猿のモデルで皮質機能をマッピングした。この種の染料を使用するとその毒性のために人間に使用するには危険が大きすぎる。さらに、かかる染料は光により漂白されるとともにしばしば注入することができる。

最近、電圧-感応染料撮像と同様の空間解像度を提供する内部信号の測定が示されるようになった。これら内部信号はニューロン活動の変化によって部分的に生じる皮質の組織変化を反映する光である。ニューロン活動を撮像するため、即ち、内部信号を撮像するため用いる同様の他の技術は(臨床的使用に対しては中止になり過ぎる)染料またはラジオアクチブラベルを用いることを必要としない。例えば、グリンバート(Grinvald)等(ネイチャ324:361, 1986年)は電気または代謝活動に応答して組織の反射測定によって皮質組織の光学特性の異常変化を測定する。また、波長500~700nmの光は高いニューロン活動の領域に流れれる増大した血液のため、活性組織および不活性組織間で異なって反射する。内部信号に寄与する他の要因はオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比の変化である。

ツソ(Ts'o)等(サイエンス249:417, 1990)は電荷結合装置(CCD)カメラを用いて後のモデルで内部信号を検出するようにしている。しかし、この技術は臨床的環境において実際的でない。その理由は頭蓋内にステンレススティールの光学窓を埋設することにより撮像が行われており、且つ充分な信号対雑音比を得るために、ツソ(Ts'o)等は像当たり30分以上の時間周期に亘って像を平均化している。皮質機能を極限化する他の既知の技術全部と比較することにより内部信号の撮像は相対的非侵入技術である。

内部信号に応答し得る機構は充分に理解されていないが、内部信号の可能なソースは小血管の拡張、即ち、カリウムのニューロン活動に依存する解離から、ま

たはニューロンおよび/または神経膠細胞の膜からの光の増大した散乱を含む。これがため、従来は、正常および異常皮質組織を精密且つ迅速に識別し得る皮質組織を実時間光学的に撮像する装置および装置を必要とする。また、従来は、高い空間的解像度で内部信号を撮像し得るとともに直ちに像を提供し、且つ手術室における通常の装置と両立し得る方法を必要とする。

本発明は部分的にかかる必要性を満足せんとするものである。

発明の概要

本発明方法および装置は、染料の組織を通る灌流のダイナミックスを反映する電磁吸収の変化を撮像することにより充実性腫瘍を識別し、等級付けし、特徴付けるために用いることができ、この本発明装置は染料灌流中光学信号のダイナミック変化を有する周囲の正常の組織から腫瘍組織を識別することができる。さらに、本発明方法および装置は神経外科処置中ニューロン活動を識別するため用いることができる。特に、この発明は視覚、運動、感覚、記憶および言語のような重要な機能をつかさどる脳領域を識別するために手術中の神経外科医が用いることができる。さらに、本発明方法および装置を用いて、てんかん病巣のような異常な皮質活動を検出することができる。最後に、本発明を用いて腫瘍除去または重度神経吻合に対する神経外科処置中個別の神経を識別することができる。

本発明はアナログビデオ信号列を得る手段、このアナログビデオ信号を処理して平均化制御像又は次の平均化像を得る手段、複数の次の像および平均化制御像を得るとともに解析して差分像を得、この差分像を処理して動きおよび維持を計数し装置のダイナミック範囲を横切る変化を増幅する手段、および差分像のみ、またはアナログビデオ像上に重ねられた差分像を表示する手段を具えることにより、腫瘍組織を撮像する装置、または皮質内部信号を実時間外科手術時に撮像し、または染料の灌流中光学信号のダイナミック変化から充実性腫瘍組織の輪郭を可視化する装置を提供する。

さらに本発明によれば、染料により吸収される電磁放射線(例えば光)の波長を含む特に強力な変動のない電磁放射線により注目部位を照射し、注目部位のビデオ信号をフレーム列として得るとともにこのフレーム列を処理して平均化制御像を得、注目部位に看取る血管内にポーラス注入により染料を導入し、注目部

特表平7-507472 (5)

位の一連の次のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、各々次の平均化像と平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化した光学信号の初期妊娠として各差分像を比較して、腫瘍組織が正常な組織と比較された染料吸収の種々の異なる運動エネルギーと充実性腫瘍組織の増大した血管分布の結果として光の変更された吸収の一時的な変化パターンとによって特徴付けられるようにして、注目部位に位置する充実性腫瘍組織の輪郭輪郭および大きさを撮像する方法を提供する。適切な染料としては

インドシアニン、フルオレセイン、ヘマトポルフィリンおよびフルオレスカミンがある。好適な染料はインドシアニシグリーンであり、これは広い吸収範囲および730 nm～840 nmの範囲のピーク吸収を有する。

さらに本発明によれば、患者の皮質の重要な機能領域を光学的に撮像するに当たり、電磁放射線の近赤外波長を含む高強度の電磁放射線により注目部位を照射し、注目部位のフレーム列を得るとともにこのフレーム列を処理して平均化された制御像を得、患者に刺激性パラダイムを注入して内部信号を刺激し、注目部位の一連のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、各々次の平均化像と平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ

注目部位内の内部信号の初期妊娠として各差分像を比較して内部信号が差分像の信号として表される電磁放射線反射特性の変化によって特徴付けられる患者の皮質の重要な機能領域の光学撮像方法を提供する。

さらに本発明によれば、末梢神経又は脳神経に対する損傷を撮像するに当たり、(a) 損傷の疑わしき箇所およびこれに隣接する領域を含む重要な末梢神経を負える注目部位を高強度の電磁放射線で照射し、(b) 注目部位の一連のフレームを得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、(c) 損傷の疑わしき箇所に隣接する箇所の末梢神経又は脳神経を刺激し、(d) 刺激時にフレームの次の列を得るとともにこれらフレームの次の列を処理して次の平均化像を得、(e) 次の平均化像から平均化制御像を減算して差分像を得て末梢神経又は脳神経の活性領域を可視化し、これにより、刺激された神経からの内部信号が

急激に終端するか、または差分像に変換され、減算されるかまたは減少される神経の箇所に沿う点として神経ブロックを可視化するようにした末梢神経又は脳神経に対する損傷を撮像する方法を提供する。

また、本発明によれば、神経組織を囲む、即ち、これに隣接する腫瘍組織を撮像して神経組織を破壊することなく腫瘍組織を選択的に摘出するに当たり、(a) 染料によって吸収された電磁放射線の波長を含む高強度の電磁放射線によって注目部位を照射し、(b) 注目部位の一連のフレームを得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、(c) 神経を刺激し、(d) 一連の次の神経フレームを得てこれら次の神経フレーム列を処理して神経の次の平均化像を得、(e) 神経の次の平均化像から神経の平均化制御像を減算して神経の差分像を得て活性神経を可視化し、(f) 注目部位に給血する動脈に染料を導入し、(g) 一連の腫瘍の次のフレームを得るとともにこの一連の腫瘍の次のフレームを処理して腫瘍の次の平均化像を得、(h) 腫瘍の次の平均化像から腫瘍平均化制御像を減算することにより腫瘍の差分像を得て腫瘍を可視化し得る腫瘍の差分像を形成するようにした腫瘍組織撮像方法を提供する。さらに腫瘍の差分像および神経の差分像を互いに重ねて腫瘍組織および神経組織の相対位置を同時に可視化することができる。

また、本発明によれば、腫瘍組織から得た像または内部信号差分像の感度およびコントラストを増強するに当たり、(a) 少なくとも電磁放射線の第1波長および第2波長を含む放射線の複数の波長により注目部位を照射し、(b) 電磁放射線の第1波長から得た第1フレーム列および電磁放射線の第2波長から得た第2フレーム列等を含む電磁放射線の各波長に相当するフレーム列を得、(c) 第1フレーム列、第2フレーム列等を処理して第1平均化制御像、第2平均化制御像等を形成し、(d) 内部信号を刺激するかまたは腫瘍組織に対する染料を導入し、(e) 電磁放射線の第1波長を用いる第1列の次のフレーム、電磁放射線の第2波長を用いる第2列の次のフレーム、等を得るとともに第1、第2等の次のフレーム列を処理して第1、第2等の次の平均化像をそれぞれ形成し、(f) 第1の次の平均化像、第2の次の平均化像、等から第1の平均化制御像、第2の平均化制御像、等をそれぞれ減算して第1の差分像、第2の差分像、等をそれぞ

れ形成し、(g) 第2の差分像に対する第1の差分像の比をとることにより増強された差分像を得るようにする。注目部位を照射する単色電磁放射線源はレーザ光源とするのが好適である。この技術を用いて注目部位の3次元情報を得ることができる。

図面の簡単な説明

図1Aは1つの記録(r)と、2つの刺激電極(s)と、変化度が決まる3つの箇所(#1, #2, #3)とを有する前面運動皮質の直前の人の皮質を示す。スケールバーは1 cmである。1.28個の像(4/秒)の平均は30Hzで得られ、且つ記憶される(1/秒)。3～5個の平均化制御像(5秒/像)を得た後、双極皮質刺激によって発生後のてんかん活動を誘発した。

図1Bは図1Aに示す4角枠1および3の空間領域における電磁放射線吸収の変化度(毎秒)をプロットして示す。両領域に対し、ピーク変化は最大量の刺激電流が誘発された4つの刺激試行(8 mA)中最も長いてんかん発生後の活動である。4角枠3内の変化度は4角枠1内の変化度よりも大きく且つ一層長かった。4角枠3はてんかん病変領域(患者のてんかんに対し応答可能な組織の動起可能領域)上に位置していた。

図1Cは図1Aに示す4角枠1および4の空間領域における電磁放射線吸収の変化度(毎秒)をプロットして示す。4角枠1は2つの刺激電極間の皮質組織の領域上に位置し、4角枠4は血管上に位置する。4角枠4内の変化度は4角枠1よりも充分大きく、その反対方向にある。また、これらの変化度は刺激電流およびてんかん発生後の活動の大きさによって等級化される。4角枠4内の変化度は血管内の血流速度の変化に著しく依存するため、このプロットは本発明が皮質活動および血流を同時にモニタし得ることを示す。

図1Dは図1Aに示す4角枠1および2の空間領域における電磁放射線吸収の変化度(毎秒)をプロットして示す。これら2つの領域が互いに近接しているに

もかかわらず、これらの光学的変化は8 mAの電流を用いる最初の3つの刺激試行中反対方向にある。4角枠2の領域内に負に向かう変化は本発明を用いて皮質活動および動起の禁止をモニタできることを示す。

図2は刺激誘起てんかん活動の空間マップを示す。この図2には皮質活動の程度で等級化された光学変化の空間程度および振幅の双方に対する種々の異なる活性度間の比較を示す。特に、図2は図1に示す刺激試行(刺激試行の定義は図1の記載で示す)のうちの2つの刺激試行中の種々の回数からの差分度像を示す。上側の3つの画像(A2, B2およびC2)は、8 mAの電流による皮質刺激が誘発された刺激試行2からてんかん後発生の主期間である。これら画像を刺激試行4から8 mAで皮質刺激によって誘発された光学変化を示す下側の画像と比較する。図2、A2およびB2は休憩中の制御像を比較する。図2、B2およびB4はてんかん後発生活動中に発生するピーク光学変化を比較する。図2、C2およびC4はピーク光学変化が観察された後20秒で回復する程度を比較する。光学変化の大きさは図の中央のグレイースケールバーによって示す。グレイースケール近くの矢印は振幅が増大する方向を示す。各像はほぼ4 cm×4 cmの皮質の領域を示す。

図3は活性領域およびてんかん発作病巣を識別する光学信号の一連のダイナミック変化を示す。図3には前の2つの図に示される刺激試行2からの8つの差分度像を示す。各像は2秒間隔で積分される。最大の光学変化の病巣領域は、像3、4および5の中心において、最大の皮質活動の領域を示す。この領域画像てんかん病巣である。光学変化の大きさは図の右側にグレイースケールバーで示す。グレイースケール近くの矢印は振幅が増大する方向を示す。各像はほぼ4 cm×4 cmの皮質の領域を示す。

図4は人の皮質における刺激誘発光学変化のダイナミック変化の実時間シーケンスを示す。図4のパネル1～8は各々が8フレーム(<1/(秒/像))の平均値である8つの連続する差分度像を示す。光学変化の大きさは図の中央にグレイースケールバーで示す。グレイースケール近くの矢印は振幅が増大する方向を示す。各像はほぼ4 cm×4 cmの皮質の領域を示す。この図は、本発明装置および方法を用いて光学変化のダイナミックスを実時間でマップするとともに情報量

特表平7-507472 (6)

の多いフォーマットでかかる情報を外科医に知らせることができる。

図5は麻酔をかけられた鼠の末梢神経の刺激による体性感覚皮質の活性（鼠の後肢の座骨神経を直接刺激することによる導入知覚入力）を示す。最左側の像は麻酔をかけられた鼠の後肢体感覚のグレイースケール像である。倍率を充分高くして個別の毛細血管が識別され得るようにする（この像には最小の血管が見える）。中央の像は休息中の差分度差制御光学像の像である。光学変化の大きさはこの像の中央にグレイースケールバーで示す。グレイースケール近くの矢印は振幅が増大する方向を示す。最右側の像は座骨神経の刺激中、後肢体感覚皮質の光学変化の差分度マップである。

図6は人の言語領域（Broca's area）並びに覚醒した患者の舌感覚および口蓋感覚領域の機能的マッピングを示す。3つの“舌運動”試行中像は平均化され（32フレーム、1秒）、2秒毎に記録される。舌運動試行は、休息中5つ～6つ像を得るとともに患者が口の上蓋に対し舌を屈曲し、次いで回復期間中像を得続ける必要があることを40秒間示す像を得ることにある。同一の患者は“言語キーミング”試行でも同様のことを行う。言語ネーミング試行は休息中の5つ～8つの像（制御像～患者は一連の空白スライドを沈黙して見る）を得、次いで（Broca's領域で大きな応答を誘発するように選択された2秒毎のスライドプロジェクタにより存在する一連の物体をキーミングする）ネーミングパラダイムで患者が同様のことを行う時間周期中の像を得るとともに最終的に（再び沈黙しながら空白のスライドを見る）ネーミングタスクを患者がやめる際の時間間に続く回復期間中一連の像を得ることである。像A1およびB1は人の皮質の領域のグレイースケール像であり、左側は前部、右側は後部、上側は頂部、下側は底部外側面である。像A1、B1、A2およびB2の2つの星印はこれら像間の基準点である。像A1およびB1の下側右隅のスケールバーは1cmとする。像A1において、番号を付した4角枠は電気刺激電極による皮質刺激によって口蓋微振動（1）、舌微振動（2）、音声停止-Broca's領域（3、4）および無応答（11、12、17、5～前運動）を誘発する箇所を示す。像A2は1つの舌運動試行の休息中の皮質の差分度差制御像である。像A2の右側のグレイースケールバーは像A2、A3、B2およびB3に関連するカラーコードの相対的な大きさを示す。像A3は1つ

の舌運動試行中に発生するピーク光学変化の差分度マップである。皮質刺激により舌および口蓋感覚領域として識別された領域は大きな正の変化を示す。周囲領域においてベースライン範囲を抑止することは1つの舌運動試行中言語運動領域が負に向かう光学信号を示すことを表す。像B2は1つの言語ネーミング試行中の皮質の差分度差制御像である。像B3は言語ネーミングタスク中の皮質のピーク光学変化の差分度像である。大きな正に向かう信号はBroca's領域に存在する。負に向かう信号は舌および口蓋感覚領域に存在する。

図7は舌および口蓋感覚領域およびBroca's領域で誘発された人の皮質のダイナミック光学変化の時間コースおよび大きさをプロットして示す。この図7には、3つの舌運動試行の各々および1つの言語ネーミング試行中図6に示す4角枠で囲まれた領域、即ち、像A1およびB1ないし組織の光吸収の変化度をプロットして示す。図7Aは3つの舌運動試行中図6で示される4角枠1、2、3および4内で空間的に平均化された像A1をプロットして示す。図7Bは4角枠1～7および7内で空間的に平均化された言語ネーミング試行の1つを示す。

図8は覚醒した人の言語領域（Wernicke's area）に重要な皮質領域の光学マップを示す。図8の像Aは患者の皮質表面を示し、その解剖学的指向は左側が前部、下側が下部、上側に沿って外側側が走っている。光学撮像後木のラインの左側の皮質組織全部は外科手術的に残存している。箇所#1および#2は音声に対する本質的なもの（例えば、ノーム物体に対する被体の皮質刺激のブロックされた可能性）として識別される。箇所#3では3つの刺激試行における1つのネーミング誤認を見いたした。外科手術的摘出が太いラインの星印でラベルされた領域に到達すると、患者の言語は劣化する。図Aのラベルを付していない箇所全部は誤りは無いが皮質刺激中スライドをネーミングする。図8の像Bは言語ネーミング試行中に得られた皮質のグレイースケール像の差分度像のオーバーレイを示す（言語ネーミング試行を説明している図6参照）。光学変化の大きさはこの像の右側にグレイースケールバーで示す。この像は外科医がこの発明を手術に用いて脳皮質をマップする手段を示す。

図9はWernicke's area（言語理解）で誘発された人の皮質のダイナミック光学変化の時間コースおよび大きさを示す。図9Aには図8に示す4角枠で囲まれ

た領域内の組織の光吸収の変化度をプロットして示す。4角枠1および2のプロットは本質的な言語箇所上に位置し、4角枠4、5および6は第2言語箇所上に位置する。これら5つの箇所の各々の表示は患者が言語ネーミングタスクを行っている間に発生した著しい変化を示す。図9Bは図8に示す6つの番号を付していない4角枠からの変化度を示す。これら前部箇所内では充分な増強はない。

図10は低い等級の人のCNS腫瘍を識別する染料の差分ダイナミックスを示す。この像列は低い等級のCNS腫瘍（星状細胞瘤、等級I）を有する患者から得たものである。図10A（上部左側）において、外科医により脳上に置かれた文字ラベルは超音波によって手術中に確認された腫瘍上に位置している。しかし、この種類および等級の腫瘍は一旦腫瘍の外科的除去が開始されると正常な組織から識別するのが極めて困難である。図10B（中央左側）には染料（インドシアニングリーン、1mg/kg）の静脈注入後ほぼ15秒経過した差分像を示す。図10C（下部左側）には、染料注入後ほぼ30秒経過した差分像を示す。腫瘍組織の領域は第1の組織染色を示す。図10D（上部右側）には、この低い等級の腫瘍において、全ての組織（正常な組織および異常な組織の双方）が染料導入後45秒で染色されることを示す。図10E（中央右側）は染料導入後1分経過した場合には示し、図10F（下部右側）は染料導入後5分経過した場合を示す（この低い等級の腫瘍では完全なクリアランスを示す）。これらのデータは、インドシアニングリーンが正常な組織よりも迅速に低い等級の腫瘍に導入され、且つ正常な組織よりも良性の腫瘍組織がクリアランスするのに時間がかかり、従って低い等級の腫瘍でも識別でき、従って、周囲の正常な組織から低い等級の腫瘍組織を手術中に識別することができる。

図11は染料の差分的ダイナミックスによって悪性の人CNS腫瘍を識別する場合を示す。図11の一連の像は悪性のCNS腫瘍（膠芽細胞腫、星状細胞腫、等級IV）を有する患者の皮質から得たものである。図11A（上部左側）はグレイースケール像を示し、この際、悪性の脳腫瘍組織は中央および右側に著しく密集し、その他の場所は（外科的手術後1週間で得られる病理スライドおよび血流血球計算によって示されたように）大部分正常な組織であった。図11B（中央左側）はインドシアニングリーンの静脈注入後15秒経過した差分像であり、悪性の組織にお

ける最初の数秒の染料灌流のダイナミックスを示すことは良性の脳腫瘍組織の最初の数秒の染料灌流のダイナミックスと同様である（図11C参照）。図11C（下部左側）は30秒経過後の悪性的腫瘍が正常な組織と比較によっても一層著しいことを示す。図11D（上部右側、染料注入後1分）および図11E（下部右側、染料注入後10分）は悪性的腫瘍組織と同様に、悪性的腫瘍組織において、染料を充分長期に保持し、ある場合には長時間周期に亘って悪性的腫瘍組織に蓄積することを示す。これらのデータは悪性的腫瘍組織を確認し、正常な組織および悪性的腫瘍組織を手術中に識別し、且つ腫瘍の種々の等級（例えば、正常対良性対悪性）を識別し得るようにすることを示す。

図12は染料の差分ダイナミックスが摘出された悪性の人CNS腫瘍の輪郭部における腫瘍組織の僅かな残遺物を確認する場合を示す。これらの像は、腫瘍が外科手術的に摘出され、試験切除が多量組織輪郭サンプリングに対してとられた注目部位から得たものである。注目部位は腫瘍の外科手術的除去後腫瘍組織が存在しなかった。通常は、この大きさの摘出部においては、單一の冷凍サンプルを病理解析用に採取する。研究の目的で、本発明により得られたマップによって組織を相関するため前記輪郭から5つの試験切除を行なう。図12A（上部左側）は腫瘍部のグレイースケール像を示す。図12B（上部右側）は外科医が輪郭輪郭したラベルを有する輪郭部を示す。これらラベルの目的は、外科医が差分像が本発明装置により得られた後組織解剖用の試験切除サンプルを除去しようとするこれを確認するためのものである。図12C（下部左側）は染料の静脈注入後1分経過した差分像を示し、図12D（下部右側）は染料注入後10分経過した差分像を示す。これら染料注入後の差分像は腫瘍組織および正常な組織の領域を含む多数の判断箇所を示す。光学撮像の精度は試験切除の解析によって手術後に確認される。図12Dの下方右側の僅かな領域は外科医によって試験切除されていない腫瘍組織の可能な領域を示す。従って、広範囲な試験切除の場合でも、サンプリング誤りは本発明の精度以上となる。これらのデータは腫瘍摘出後の腫瘍部に腫瘍の僅かな残遺物が確認されることを示す。

図13はMR1撮像によるもコントラストが増強されない患者の腫瘍を確認し且つ特徴づけることができる場合を示す。良性でない腫瘍の構造は現在のMR1撮

特表平7-507472 (7)

像技術では観察されない。この図13の像は腫瘍のコントラストがMR Iによって増強されない患者から得られたものである。かようにコントラスト増強ができるのは通常典型的な良性の腫瘍に対してである。しかし、光学的な画像はこの腫瘍を良性でない型（病理および血流の血球計算によって1週間後に示される肛門型星状細胞腫）として確認することができる。図13Aは注目部位のグレースケール像を示す。図13Bは染料注入前の差分像を示す。図13Cは静脈内染料注入後1分経過した注目部位を示し、図13Dは染料注入後5分経過した重要な注目領域を示す。この場合染料はこの組織に充分な時間に亘って保持される。図10, 11および12に示すように、このダイナミックな特性は良性でない腫瘍の特徴である。

図14は無損傷頭蓋に基づく神経膠腫の染料によるダイナミックスおよび確認の非観血像を示す。この図14は本発明を用いて無損傷頭蓋による腫瘍を確認し得ることを示す。図14Aは鼠の頭蓋表面のグレースケール像である。腫瘍は後の中軸を走っている。腫瘍細胞が歯口前に左側に注入され、従ってこの鼠はその脳の左側半部に神経膠腫が発生する。右側半部は正常である。4角枠1は鼠の腫瘍の発生領域上に置き、4角枠2は正常な組織上に置く。図14Bはインドシアニングリーン染料が既に手術中に注入された後1秒経過した差分像である。腫瘍組織を含む領域は無損傷頭蓋を経て直ちに見え得るようになる。図14Cは染料注入後5秒で染料が正常な組織および腫瘍組織に充満していることを見ることができる。図14Dは、染料注入後1分経過して正常な組織が染料を清浄にするが、染料は腫瘍領域にいまだ保持されている。この差分像中心の染料の濃度は緩慢に落着する染料である。

図15は無損傷頭蓋を経る腫瘍組織対非腫瘍組織における染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を説明する。この情報は図14Aから4角枠1および2により示される空間領域全体に亘る電磁放射線吸収平均の変化度の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の閑数である。グラフ“頭蓋外腫瘍”は図14Aから得た4角枠1内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示し、グラフ“頭蓋外正常”は図14Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示す。

図16は鼠神経膠腫モデルにおける腫瘍領域対非腫瘍領域のダイナミック変化の

取された箇所と照合する。染料がクリアされた領域から採取した生検は正常な細胞のみが含まれることを示し、染料が滞留した領域から採取した生検は腫瘍細胞が含まれることを示す。残留した極めて僅かな部分は腫瘍細胞内でマップすることができる。

図18は腫瘍組織対非腫瘍組織での染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を示す。これは図18Aから4角枠1および2によって示される空間領域に亘る電磁放射線吸収平均の変化度の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の閑数である。グラフ“腫瘍”は図18Aから得た4角枠1内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示し、グラフ“正常”は図18Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示す。このデータおよび図18から得たデータは本発明装置および方法によって極めて高い空間および時間解像度で腫瘍細胞内で非腫瘍組織から腫瘍組織を識別し得ることを示す。

発明を実施するための装置の形態

本発明は実時間でニューロン内在信号を撮像するとともに染料を用いる充実性腫瘍体の存在、大きさ、緑部、元および等級を決める装置を提供する。さらに本発明は実時間で内在信号をマッピングすることにより患者の皮膚を機能的にマッピングする方法、生検のサンプリング誤り、または、剖検者の凍結切手解釈の選択および可能な診断を行うことなく、実時間で充実性腫瘍組織の存在、大きさ、位置および等級付けを決める方法、および腫瘍細胞によって物理的に損傷を受けるか、または腫瘍細胞によって囲まれ、且つこれに隣接し得る神経組織を撮像する方法を提供する。本発明方法は、ビデオ入力ハードウェア像処理ハードウェアを含む一連の構成要素を異なる同様の装置を用いる。ビデオ入力ハードウェアは例えばCCD（電荷結合装置）カメラのような光検出器（汎用にはCOHUエレクトロニクスサンディエゴCA社製のCOHU6500電子制御パッケスを有するCOHU6510CCD単色カメラ）とする。あるカメラでは、アナログ信号をA/Dボード（アナログ-デジタルボード）で8ビット用にデジタル化する。像処理ハードウェアは一般に“ホストコンピュータ”によって制御する。このホストコンピュータは、（インテル386、486、または良好なマイクロプロセッサ、即ち

空間マップを示す。図16の一連の像は腫瘍組織および非腫瘍組織間の染料による吸収変化のダイナミックを表わす。図16Aは注目部位のグレースケール像を示す。これは図14に示す鼠と同一の鼠の像であるが、頭蓋は神経膠腫を含む左側半部を露出するために除去するが右側半部には正常な組織が含まれている。4角枠1は腫瘍上に置き、4角枠2は腫瘍の周囲に置き、4角枠3は正常な組織上に置く。図16Bは1mg/kgのインドシアニングリーンが既に静脈注入した後1秒経過した注目部位の差分像を示す。この初期時間中、腫瘍組織はまず染料の取込みが腫瘍組織に生ずることを表わす測定可能な光学変化を最初に示す。グレースケールバーは差分像の列の光学変化の相対的大さを示す。図16Cおよび図16Dは染料注入後それぞれ4秒および30秒経過した注目部位の差分像を示す。これらの中間段では染料は正常組織および腫瘍組織の双方に集まる。図16Eおよび図16Fは染料注入後それぞれ1分および5分経過した注目部位の差分像を示す。これら後者の時間では染料は、これが正常組織から清浄になっていくも、いまだ腫瘍組織に集まっている。

図17は腫瘍組織対非腫瘍組織における染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を示す。これは図16Aから4角枠1、2および3により示される空間領域全体に亘り平均化された電磁放射線吸収の変化度の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の閑数である。グラフ“腫瘍組織”は図16Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示し、グラフ“正常な脳”は図16Aから得た4角枠3内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示す。

図18は切除された腫瘍細胞の腫瘍痕跡を表わす染料取込みのダイナミック像を示す。これは図14～17に示す同一の鼠での研究の继续である。図18Aは腫瘍が切除された後の鼠の左側半部の高拡大像を示す。4角枠1は腫瘍組織細胞の僅かな痕跡を含む領域上にあり、4角枠2は正常な組織のみを含む領域上に位置する。グレースケールバーは差分像の光学変化の量を示す。図18B、図18Cおよび図18Dは静脈内染料注入後4秒、30秒および60秒経過した腫瘍組織部の差分像をそれぞれ示す。微細な生検は適切な染料含有を示す領域からおよび染料が急速にクリアされた領域から採取する。これらの生検は盲解剖し、後に生検が採

、Sun SPARC を有するIBM PC型のような）任意の共通汎用コンピュータとする。このコンピュータは撮像ハードウェアでインターフェースされ、且つデータ流、計算、像取込み等を管理する撮像ハードウェアに命令をだす。これがため、ホストコンピュータによって撮像ハードウェアの操作を管理し、ユーザインターフェースを提供する。

詳細

次に示すものは、共通に使用される項目の定義であり、イノウエ、マイクロスコピー ブレナム プレス、ニューヨーク、1989年に記載されているように、そのアート アセプティック 处理法に従って本願に適用する。

注目部位は像のサブジェクトを表す組織の領域である。

算術論理演算装置（ALU）は信号で多数の算術論理演算（例えば、和、差、掛け、または定数乗算等）を極めて高速で行うハードウェア素子である。

平均化制御像はある時間周期に亘る実時間像列の平均値である更新可能な像である。

電荷結合装置（CCD）は小型ビデオカメラの撮像管に用いられる光感シリンチップである。

差分像は平均化制御像から同時に次の像または特定の像を加算または減算することによって形成された操作可能な像である。

フレームは単一ビデオ画像の单一デジタル化アレイである。

フレームバッファは平均化制御像、次の像または差分像のような1フレームの任意の記憶として作用するハードウェアの一部である。

幾何学的変換（GonzalezおよびWintz著、『デジタルイメージ処理』、Addison-Wesley Publishing Co., Reading, 1987）によって一般に像の画素間の空間関係を修正する。この理由で幾何学的変換はしばしば“ラバーシート変換”と称されている。その理由はこれら変換をラバーシート上に像を“プリント”し且つあらかじめ規定された規則に従ってこのシートを伸張するからである。ビデオ撮像に適用する際、次の像は動きのために並んだものとしてみることができ、これら像を“ワープ”してこれらが静止像と同様となるようにする必要がある。幾何学的変換は、点変換によって画素値および／または位置にのみ基づく像の画素値を移

特表平7-507472 (8)

の経お経のダイナミックスを増大して注目領域のイベントを示すように処理された行の差分像である。

腫瘍検出部は外科医が腫瘍を抽出した箇所の領域である。

装置

本発明装置は1つのユニットまたは1群の構成要素として形成する。第1の構成要素は高強度電磁放射線源である。この放射線源によって充実性腫瘍組織を有するものと推測される部位のような皮膚表面、即ち、注目部位を照射する。種々の異なる内在信号は電磁放射線の種々の異なる波長によって照射することができる。さらに、電磁放射線源は腫瘍撮像方法用の染料によって吸収される電磁放射線の波長を含む必要がある。例えば、染料をインドシアニングリーンとする場合には、好適な波長は約730 nm乃至約840 nmとする。他の染料に対しては、電磁放射線を照射する好適な波長は染料が吸収される波長を含むようにする必要がある。光の代わりに電磁放射線を用いることができる。その理由は可視光範囲の外側のスペクトルの赤外領域で撮像することもできるからである。

皮膚から内在信号を決める場合には、反射された電磁放射線はフィルタ処理して電磁放射線の選択された波長のみのビデオ画像を行うことができる。電磁放射線の好適な選択波長は例えば500 nm乃至900 nm、さらに好適には近赤外スペクトルを含む。一般に、一層長い波長（例えばほぼ800 nm）はによって一層深い皮膚活動を測定する。

さらに、0.75乃至1000 μmの不可視領域の赤外線スペクトルの部分によって頸骨および硬膜を経る内在信号を決め、これにより無創の硬膜および頸骨を経、且つ神経外科に開通する危険性なく内在信号を決めるようにする。遠赤外線波長のこの範囲を用いる場合にはIR検出器は可視アナログカメラのCCDチップ以外の他の装置とする。IR検出器は歯化インジウムと、シリコン以外のテルル化ゲルマニウムおよび水銀カドミウムなどの材料から造る。IR検出器はこれらが僅かな温度変化に感応するように低温冷却する必要がある。例えば、あるIR撮像系はIRC-64赤外線カメラ（シンシナチ エレクトロニクス、メイソン OH）とする。

熱が皮膚の表面に到達すると、皮膚はほぼ3~5 μmまたは8~14 μmの範囲

正するとともに他の画素値が変換に含まれないと云う点で“点変換”とは区別する。

選択はフレームまたはフレーム列を処理して平均化制御像または次の平均化像を形成するようなデジタル化後に変更されたフレームの組合せである。

内在信号は内因性組織活動による神経組織の反射特性の検出可能な変化である。内在信号の主原因は例えば膜層光解消、神経膠細胞腫瘍、ニューロン膜間のイオン束、血液容積変化、血液還元（ヘモグロビン対還元ヘモグロビン）、組織還元およびその組合せを含む。

輝度ヒストグラムは2つの点（高、低）間の値をマップして完全な範囲の値（即ち、ダイナミック範囲）をカバーする変換である。例えば、低い値は零にマップし、高い値は255にマップし、中間の値は輝度値を線形に増大するようにマップする。低い値以下のすべての輝度値は零に設定し、高い値以上のすべての輝度値は高い値に設定する。

ルックアップテーブル（LUT）は各画素のグレー値を他のグレー値またはLUTによって特定されたカラーに変換するように調整されたメモリを構成するよう機能するハードウェアの一部である。LUTは（点処理アルゴリズムの慣例の実現方法のように）像のコントラストを処理し、像をしきい値化し、類似カラーモードを適用するようにプログラムすることができる。本発明の場合には、LUTではADIおよび/またはALUボードで速度に対して好適に実現する。

パラダイムによって特徴の機能（例えば音声、言語、視覚等）をつかさどる皮膚組織の領域の電気的活動を変化せしめて内在信号と称されるものを増減させるようする。

画素はデジタル化信号の各フレームにおける増減の個別のユニットである。各画素の強度は信号処理前の強度の強さに正比例するとともに特定の画素に相当する組織の特定の領域から反射された電磁放射線（光子）の量に相当する。像の画素はデジタル画像の最小のユニットであり、その出力強度は任意の値を取ることができる。CCD画素はCCDチップ上の最小の検出素子であり、そのアナログ出力はこれが検出される光子の数に正比例する。

処理された差分像は難音または運動をフィルタ除去するとともに種々の画素直

の電磁放射線を放出する。この放出された放射線を撮像することも試みられた（例えば、ゴルバッカ等による“脳皮膚の赤外線マッピング”サーモグラフィ3:108、1980参照）。しかし、本発明によればこれら放出された波長をフィルタ処理し、且つCCD検出器の代わりにIR検出器を用いる。IR電磁放射線源は例えばレーザフォトニクス、オルランドウ、FSLから調節可能なIRダイオーディーラーとする。撮像された波長は体温および吸収変化の像とは異なり、電磁放射線散乱は本発明方法により得ることができる。無損傷皮膚および可能には骨を経る腫瘍像の場合には、IRに吸収される染料（例えば、インドシアニングリーン）を用いることができる。他の有効な染料には、例えば、ヘマトフォルフィリン誘導体（IIPD）から説明され630 nmで光を吸収するフォトフリン®、モノエスパチルクロライド-3G（NPe®、ニッポンペトロケミカル、日本）、ベンゾフォルフィリン誘導体（BPD、クモドラ ロジック バンクーバーBC）、エバンスブルーおよびその組合せがある。

好適には、電磁放射線源は、クングステン-ハロゲンランプのような高輝度の高輝度、広スペクトルの電磁放射線源および695 nm以下のすべての波長に対するカットオフフィルタで構成する。最も好適には、電磁放射線源をファイバオプティック手段によって注目部位に向けるようにする。かかる電磁放射線源の例は直列調節器（Lambda, Inc.）により制御されるビームスプリッタを通過し且つ695 nmのロングパスフィルタを通過するファイバオプティック電磁放射線とする。

本発明装置は皮膚または注目部位のアナログビデオ信号を得る手段を含む。アナログビデオ信号を得る好適な装置は電荷結合装置（CCD）ビデオカメラであり、これによって例えば標準RS-170 ゴンベーションを用いるフレーム当たり512 水平ラインを有する30Hzの出力ビデオ信号を発生する。かかる装置の1つはCCD-72ソリッドステートカメラ（Dage-MTI Inc.、ミシガン シティ インディアナ）であり、他の1つはCOHU6500（COHU、サンディエゴ、カリ福ルニア）である。

注目部位は均等に照射して全ダイナミック範囲に亘り信号を良好に調整する必要がある。注目部位が均等に照射される場合にはダイナミック範囲が制限され

るようになる。好適には、高輝度且つ拡散、即ち、均等な照射システムを用いる。注目部位全体に亘って均等な照射を得る技術は、例えばデジタル化像、制御点としての注目部位における一定な陰影グレイ度マーク点、カメラおよび/または電磁放射線源の前面の波長カットオフフィルタおよびその組合せ上の不均等照射を補償するための拡散照射像処理アルゴリズムを含む。好適には調整された電源によって電磁放射線源の変動を防止する。フートプレートシステムは注目部位と接触しこれを保護して平坦な輪郭を形成する光学ガラス（鏡面）である。このフートプレートによっても組織の動きを阻止する。

アナログ信号は先ず最初（アナログ信号のレベルでデジタル化前の）検出感度を最大として信号を増幅し、全ダイナミック範囲に亘り信号を抜け、これにより装置の感度を増大する必要がある。（交流電力ラインからのような）60Hzの雜音はアナログフィルタによりか制御ボックスでフィルタ除去する。さらに、かかる調整によっても電荷結合装置CCDからのアナログ信号を増強し、増幅し、条件付けてする。入力アナログ信号を適宜に調整する手段の1つはビデオ速度（30Hz）でこの信号をデジタル化し且つアナログに変換し直すデジタル化像として注目部位を観ることである。

操作処理中組織または患者の僅かな動きをも捕捉するのが重要である。患者の大きな動きはカメラを新たに方向付けして新たな平均化制御信号を得るようにする必要がある。動き捕捉は機械的手段または計算的手法あるいはその双方によって行うことができる。機械的手段は例えば注目部位にフートプレートを置き、この際フートプレートはフレーミング装置の遮光光学ガラスを真えるお上げ/または患者の骨フレームにカメラおよび電磁放射線源を固定することによって造成する。カメラおよび/または電磁放射線源を患者の骨構体に取付ける場合には注意の患者の動きは何等影響を受けない。その理由はカメラおよび照射線源が注目部位に一定に向けられたままであるからである。フレームプレートの利点はこれによって動脈圧および/または電磁放射線源を患者の骨構体に取付ける場合には血管搏動による変化を防止することにある。計算手段は例えば注目部位の機械制御点およびこれら制御または結合点の動きの補償を行う三角形型アルゴリズム、および各次の像を平均化制御像に幾何学的に配置して動きを補償する“像

特表平7-507472 (9)

ーピング”技術、および両技術の組合せを用いる。像ワーピング技術は例えばWolberg著“デジタル像ワーピング”IEEコンピュータソサイティプレス、ロスアリミストカリフォルニア、1990に記載されている。さらに像ワーピング技術は平均化制御像に対し動きが大きすぎる際に用いられ、新たな平均化制御像をとる必要がある。制御点は内在信号解析に対し皮質表面直接置かれるように注目部位に直接置くことができる。例えば、Goshgastby（“便登録用小片状顎形マッピング機能”パトーン認識、第19巻、459-66頁、1986年）は制御点を用いる三角形状領域に像を分割する方法を提案している。各三角形状領域には個別に幾何学的変換を適用して各制御点を制御像の関連する三角形状領域に空間的に配置する。

2つの像（平均化制御像および次の像）を計算前に調整列する場合にはアーティファクトが発生する。その理由は差分像が噪音および線部情報を増幅する傾斜像と同様となるからである。像の調整列は患者の動き、心拍および呼吸から生じ得るものである。1つの解決策は患者の頭のように患者に固定された剛体アセンブリにカメラを固定して患者の任意の動きに従ってカメラの視野が動き得るようにする。他の解決策は動き検出器による実時間の動き補償および像処理板による幾何学的変換を行うことである。簡単な翻訳または一層複雑な（従って一層正確な）アンワーピングを入力フレーム速度および平均化の量に依存して実現し得るようにする。

人体の組織を撮影（ニューロン活動または組織を流れる染料のダイナミックな撮影）する場合には、通過する像を得る間に生じ得る人体の動きを補償する必要がある。

多くの型の像に対してはXY面の並進運動によって像を変換する幾何学的補償を行うことができる。このようなアルゴリズムに対し実現可能とするために、周囲光の変化に対し（整数算術演算を好適に実現し得る）計算的に影響、メモリ影響および頑強とする必要がある。

1つの可能な方法は制御像に対する方向毎に画素の0乃至1だけ像を並進運動させるようにする。 $(2 * k + 1) * (2 * k + 1)$ の各々に対し、像計算を行い、あるメリットを計算して制御像に対する接近性を推測し得るようにする。か

らには、信号処理手段は、白黒像で表わされるグレイ符号化画素値を各グレイ符号化値の強度に基づくカラー符号化値に変換する値で初期化されたプログラムブルックアップテーブル（例えば、CM150-LUT16、イメージングテクノロジーズ、ボーブルン、マイアミ）を含む。これによって像伸張により像增强を行う。像伸張は、デジタル像フレームの各画素を表すために用いられる最高および最低の画素強度値を伸張すべき像フレームの領域全体に亘って決めるようとする。選択された領域を値の大きな範囲に亘って伸張することにより例えば噪音による比較的高いスブリッカ値を容易に識別し、且つ除去することができます。受信した各像を、例えば画素の 512×512 アレイとして表わされるデータ要素のフレームとしてフレームバッファ、好適にはCPUの文庫内に記憶する。各画素は256グレインレベルの1つに相当する8ビット値を有する。

さらに処理手段はA/Dインターフェースから受けたデジタル化像データのフレームを記憶するフレーム記憶領域を有する複数のフレームバッファを有する。フレーム記憶領域は少なくとも1メガバイトの記憶スペースおよび好適には少なくとも8メガバイトの記憶スペースを有する。追加の16ビットフレーム記憶領域は、8ビット以上で表わされる画素強度値を有する処理された像フレームを記憶するアキュムレータとするのが好適である。フレームバッファは一時的な高速メモリとする。処理手段は少なくとも3つのフレームバッファを含む。そのうちの1つのバッファは平均化制御像を記憶し、他のバッファは次の像を記憶し、3番目のバッファは平均化制御像および次の像間の差分像を記憶する。

さらに処理手段は1つ以上のフレームバッファに位置するデータから算術演算（加算、減算等）機能および論理（AND、OR等）機能を有する算術論理演算ユニット（ALU）（例えば、ALU-150バイオペラターパロセッサ）を含む。ALUは高速プロセッサとする。ALUによって実時間で像平均化を行う。例えば、新たに到来するデジタル化像ALUに直接送るとともに双方の像をALUに通過させて加算することによりフレームバッファに位置する平均化制御像に対する加算または減算を行う。最後の像を加算した後、この16ビットの結果を再びALUに送ってALUによりこの結果を定数（即ち、像の絶対値）で除算する。ALUからの出力はフレームバッファに記憶してさらに処理を施すか、またはそれ自

かるメリットの1例は減算像の分散である。この方法の欠点はこれが充分でないことがある。その理由は $(2 * k + 1) * (2 * k + 1)$ 減算像の各々に対し、 512×512 画素に亘る分散を計算する必要がある。

このアルゴリズムの有効な改善は、各領域が制御像に対し並進運動を必要とする像からの少數の画素（即ち、 8×8 ）より成る注目部位（例えば9つの注目部位）のある僅かな数を任意に選択することによって減算像の分散を推測する必要がある。また、制御像のこの開拓する注目部位に対しこれら小さな注目部位を並進運動するある深度さ（例えば10画素）を選択する。0乃至10画素に対する可能な方向の並進運動後、選択された注目部位全体に亘る分散を最小にする並進運動を選択する。注目部位のすべてが同一の大ささであるため、最小の分散を選択し得るよう順序付けする必要のある分散の計算に除算は必要でない。従ってすべての計算は整数算術演算で行うことができる。注目部位が充分小さいため、データの大部分はフレームバッファおよび増大速度に対しI/Oを制限するホストコンピュータのRAMに記憶することができる。

他の問題は組織表面の照射を確実に均等にすることである。照射源の変動から不均等が生じ、強度分散は組織表面の3次元特性から生じる。照射源の変動は、光フィードバック機構を用いて照射源の供給電力を調整することによってアドレス指定する。これら問題の双方は像処理モジュールで補償することもできる。

アナログビデオ信号は信号処理手段に絶えず供給する。データを備て解析するかかる手段の1つは像解析機（例えば、シリーズ151像プロセッサ、イメージングテクノロジーズ、インコーポレーション、ボーブルン、イリノイ）である。像解析機はアナログデジタルインターフェースでアナログビデオ信号を受けてデジタル化し、且つ1秒のはば1/30のフレーム速度（例えば30Hzまたはビデオ速度）でかかる機能を遂行する。信号の処理には、まず最初、画素に割当てられた注目部位の部分から反射されない光子の数（即ち、飛散放射線の量）に依存する（2進系）値を割当てて一遍の画素、即ち、小さな正方形にデジタル化する。例えば、現在のチクロロジーCCDから標準 512×512 像において、像当たり262,144個の画素が存在する。8ビットシステムでは、各画素は8ビットで表わされる。このCCDは冷却して熱噪音を減少させることができる。

体の入力として用いて再び他の像と組合せるようになる。

かかる像を減算する前に、デジタル化像で患者の動きを補償するのが重要である。これがため、像に幾何学的変換を施してこれら像を減算前に幾何学的に配置する。

本発明装置は実時間モデュラープロセッサまたは高速CPUチップを像プロセッサに加えることによって各フレームを形成する処理速度を増強することができる。例えば1つの実時間モデュラープロセッサを150 RTMP-150リアルタイムモデュラープロセッサ（イメージングテクノロジー、Roburn、マサチューセッツ）とする。

さらに処理手段は差分像のヒストグラム伸張（例えば、ヒストグラム/フィルターアクストラクタHF-151-1-Vモジュール、イメージングテクノロジー、Roburn、マサチューセッツ）を行って各差分像をそのダイナミック範囲に亘って増強する。線形ヒストグラム伸張は例えばグリーンによる“デジタル像処理：システムアプローチ”ファンノストランド、ラインフォルド、ニューヨーク、1983年に記載されている。ヒストグラム伸張によって最も明るい画素、即ち、差分像の最高値を有する画素を割当るとともにこれに最大値を割当てる。最小の画素値には最小値を割当てその間の全ての他の値には（線形ヒストグラム伸張に対し）最大値および最小値間の直線的な値（およびlogヒストグラム伸張に対し対数値）を割当てる。これにより差分像によって絶対変化に対し供給される全ダイナミック範囲を完全に用い得るようにする。

像処理システムによって得られる、または、開発下のハードウェアの多様体を用いることができる。例えば、テキサスインストラメントマルチメディアビデオプロセッサ（MVP）が動きビデオ用途に対して開発されている。MVPによって内部アーキテクチャを高度に平行とし、オンチップメモリを大きくし、CPU内でCPUメモリおよびI/O接続間の通信の帯域幅を極めて広くし、実時間ビデオ圧縮機能および実時間像捕捉、処理並びに可視化の要求を支持するに必要な毎秒20億以上のRISC型演算特性を有する。例えば、ハードウェアはVMEバスへのインターフェースを有するプリント回路板モジュールを具えることができる。单一シャーシによって全部のモジュールを収容し、手

特表平7-507472 (10)

術室内または手術室間で容易に搬送し得るとともに表示モニタおよび周辺入出力装置を有するラックに設け得るようにする。実時間システムは例えば取得（アクティジョン）、像処理、周辺制御およびホストコンピュータに対する4つのボードを有する。処理能力を低減する最小の構成は取得ボードおよびホストコンピュータボードのみを有することである。取得ボードは将来ビデオフレームの実時間平均化を行い、且つ最大速度のバスで平均化フレームを送出することである。VMEバスが好適な理由はそのピーク帯域幅（最も遅い修正に対して80Mバイト／秒以上、VME64）が高く、且つ多段の存在するVME積と耐久性がよいからである。取得ボードは可変走査インターフェースを経て多くの種々の型のカメラを支承する必要がある。データボードによって多くの種々の型のカメラのインターフェースの必要性を支承することができ、且つ可変走査信号を取得マザーボードに供給することができる。好適には、ユニットはRS-170Aビデオ信号へのインターフェースを行なうデータボードを有し、カメラの広い基部を支持し得るようにする。高い空間／コントラスト解像度および／または良好な信号対雑音比を有する低速走査カメラのような他の型のカメラを用い、これを本発明装置に組込むことができるとともに改善したデータボードにかのように改善したカメラを組込むこともできる。

ホストコンピュータはVMEインターフェースを有する单一ボード構成コンピュータを有する。好適には、このホストコンピュータはバス帯域幅の考案に依存するVME64インターフェースまたは標準（IEEE 1014-1087）VMEインターフェースを有する。ホストコンピュータボードの例は例えばフォースSPARC/CPU-2もおよび日本P0000モデル7471を含む。ユーザのインターフェースは例えばユニックス/X-ウインドウ環境とができる。像処理ボードは例えばテキサスインストラメンツMVPおよび他のチップに基づき、実時間像平均化、登録、および手術中見え得るようにするために高品質の差分像を発生させるために必要な他の処理を実行し得るようにする。このボードも120×120RGB表示装置を駆動してハイライト腫瘍組織に対する疑似カラーマッピングを有する一連の差分像を示す。好適にはホストコンピュータに第2モニタを用いてスクリーンリアル画面全体を増大し且つユーザのインターフェースを円滑にし得るよう

にする。処理ボード（完全にプログラマブルである）によってVME64マスターインターフェースを支持して他のボードと相俟ってデータトランザクションを制御することができる。最後に、周辺制御ボードによって電気的なインターフェースを設けてホストコンピュータから機械的なインターフェースを制御することができる。かかる機械的なインターフェースは例えば染料注入用のコンピュータ制御モータ駆動シリンジおよびカメラ制御ボックスを有する。

差分像は好適にはさらに処理して像を円滑にするとともに高周波雜音を除去する。例えば、低周波空間フィルタは高い空間周波数および／または低い空間周波数を阻止してダイナミック範囲の両端で高周波雜音を除去し得るようにする。これにより円滑に処理された差分像（デジタルフォーマットで）を提供することができる。デジタル処理された差分像はカラーのスペクトルをグレイの異なる陰影に割当ることによりカラー符号化することができる。次いでこの像を（AD 1ボードにより）アナログ像に再び変換し戻して、平均化制御像および次の像間の差を実時間で可視化する。さらに処理された差分像はアナログ像全体に亘り重畠して注目部位のビデオ表示時に領域の染料が迅速に吸込まれる際に、または内在信号が正の方向に増大する特定の組織箇所を表示し得るようにする。同様に、神経活動が減少すると組織の電磁放射線吸収量が減少する（即ち、組織が一層明るくなり、内在信号が負となる）。例えば、像Aを次の平均化像とともに像Bを平均化制御像とする。通常は、像Aの要素が像Bの要素から算算するとともに負の値を発生し、この値を零として処理する。従って差分像によって禁止領域を考慮することはできない。しかし、本発明によれば、負および正の内在信号を確認する方法を提供し、この方法によれば、（a）像B（平均化制御像）から像A（次の平均化像）を算算して第1の差分像を形成し、これにより全ての負の要素を零とし、（b）像Aから像Bを算算して第2の差分像を形成し、これにより全ての負の要素を零とし、且つ第1および第2の要素を加算して“和の差分像”を形成する。和の差分像は増大する活動（即ち、黄、オレンジ、赤のような暖色系のカラーで符号化されたカラー）の領域を示し、減少する活動（即ち、緑、青、パープルのような寒色系のカラーで符号化されたカラー）の領域または禁止領域を示す。或は又、第2の差分像に第1の差分像を重ねることができる。

きる。何れの方法によっても増大したニューロン活動おれんじ減少した活動の像を提供することができる。

好適には、処理手段はデジタル像データを記憶する光学ディスク、デジタルおよび／またはアナログビデオ像のハードコピーを提供するプリンタ、および装置の（アナログ信号に逆変換された）差分フレーム出力を連続的にモニタするようにしたモニタとを更に有する。この差分フレーム出力は実時間アナログビデオ像上に重畠して冷凍時にカラー符号化差分フレームで重畠された注目部位（例えば皮膚表面または推定された腫瘍箇所）のビデオ像を形成し、迅速な染料吸込み部位が発生し、且つある刺激またはパラダイムに応答して内在信号が存在することを示すことができる。

外科処置中、患者が動く場合がしばしばある。麻酔処置された患者の場合には、動きはしばしば呼吸および血流に依存する。覚醒した患者の場合には追加の動きが生ずる。この動きはデジタル像で捕獲されるため、これら像は減算前に幾何学的に置換することができる。この幾何学的補償はデジタル化像に幾何学的変換を施すことによって達成される。幾何学的変換を実時間で遂行し得る像一処理ハードウェアの一部はGPI-150幾何学的処理ボード（Informatique et Techniques Avancées, Issy-les-Moulineaux, France）である。このGPI-150幾何学的処理ボードはイニックスハードウェアと並立し、且つ実時間回転、並進、ズーム、および512×512×8ビット像での双一次補間による2次アビュートを実行する。撮像方法

充実性腫瘍を撮像する方法は注目部位の推定腫瘍箇所を灌流する血管（例えば動脈または静脈）にポーラス注入により染料をお粗略に導入することを含む。好適には、染料は比較的短い半減期（例えば5分以下）を有し、且つ迅速にクリアされて繰返し導入を可能とする。本発明装置のビデオCCDは推定された充実性腫瘍箇所（注入部位）上に聚焦され、且つ染料により吸収される波長を含む高強度の電磁放射線によって上記腫瘍箇所を照射する。染料の導入直前に第1の平均化像を取出し、デジタル化し、フレームバッファに記憶する。染料は迅速に注入されて直ちにポーラスとなる。次の像フレームを取出して記憶し、統計的に比較して本発明処理手段を用いる差分像（例えば1秒当たり1つまたは2つ）を形

成する。染料の初期可視化はまず最初腫瘍組織の差分像に現われる。その理由は染料が一層迅速に腫瘍組織を灌流するからである。充実性腫瘍の様相は充実性腫瘍マスを概説する陰影付きのラインとして差分フレームに現われる第1像となる。この差分フレームを冷凍して記憶し、外科医が腫瘍像を観察して手術中に実時間で腫瘍部位を確認し得るようにする。さらに、染料は正常な組織に比べて腫瘍組織で長期間に亘り残存する。これがため、正常な組織および腫瘍組織の双方において注入部位を通過する染料が一般に現われた後腫瘍組織の染料クリアランスが遅延し、これにより腫瘍組織に存在し、正常な組織に存在しない染料によって腫瘍存在を可視化する他の機会を得ることができる。一層侵略的な悪性の腫瘍では、腫瘍の等級が高くなればなるほど染料が腫瘍組織の一層長く残存するようになる。等級が低く一層良性の腫瘍に対しては、染料は腫瘍組織に15秒乃至2分間残存するが、一層悪性的腫瘍では染料は10分間も残存するようになる。

本発明方法はMRI（磁気共鳴撮像）のような腫瘍第1撮像技術を確立するのに極めて好適である。その理由は光学的撮像によって現在のMRI技術（MRIは手術中の技術ではない）で判別し得なかった等級の低い腫瘍を識別し得るとともに更新した像を染料の再導入による外科的処置中連続して用いることができるからである。この染料は噴出が開始されて残留腫瘍組織に対し噴出壁部を視る外科的処置中複数回導入することができる。CNS腫瘍に対してはMRI技術によってかかる腫瘍を撮像し得る血脳関門を妥協した進行期の腫瘍に必要である。コントラストによる本発明光学的撮像方法は血液脳関門といまだ妥協しない低い等級の腫瘍を撮像することができる。これがため、この光学的撮像はMRIよりも一層悪度のよい技術であり、手術中の使用し得、且つ腫瘍を等級化する好適な手段を提供することができる。

染料は生体内導入に対し安全であり且つ静脈内導入または動脈内動脈内時に短い半減期を有する電磁放射線吸収染料とする。かかる染料の1例には、インドシアニングリーン、フェトフリン®、NPE-1、BPD、エバンスブルーおよびその組合せがある。さらに、充実性腫瘍の外科的摘出中、染料は注入部位から迅速にクリアされるのが重要である。斯様にして、染料導入を繰返して摘出中残留腫瘍組織を決めるようにするのが重要である。

特表平7-507472 (11)

撮像観測中患者、特に覚醒患者の動きを考慮して、平均化像フレームを連続的に更新するのが重要である。これがため、残留染料の新規、患者の動きまたは外科的処置による組織の動きを考慮する。

例えば、腫瘍組織を可視化する本発明方法は、前頭葉の皮膚組織モデルに用いて本発明方法の可能性をテストし、腫瘍組織から正常なまたは水様性の脳を確認するとともに全ての可視化画像出後異常な腫瘍から正常な腫瘍を本発明方法により分離するかどうかを決めるようになる。脳の血管を経る染料の滲流のダイナミックな性質によって正常な脳および腫瘍組織の識別を行う。さらに、 $20 \mu\text{m}^2$ /画素以下の光学像の空間解像度のため、残存腫瘍の小さな領域をも確認することができる。さらに、腫瘍組織を無損傷頭蓋窓を経て確認し得るため、外科的手術前に腫瘍撮像を行う方法および装置を提供することができる。理論に縛られることなく、正常な脳組織周囲および腫瘍組織を経る染料滲流のダイナミックな差を次に示す4つの理由の任意の1つまたはその組合せに対し考慮する必要がある。

- (1) 機能不全腫瘍毛細血管を経る染料の大きな滲出、
- (2) 腫瘍組織による染料の著しく迅速な吸引、
- (3) 腫瘍組織を経る緩慢な伝播回数、
- (4) 腫瘍細胞による染料の軽々な吸引。

鼠の皮膚組織モデルを検査し、微小血管系を正常な皮質と比較する。腫瘍組織の血流は正常な組織のものよりも一層緩やかであり、且つ一層変化し得る。腫瘍と正常な脳との相違は腫瘍の位置、浸潤度、壊死に寄与する。鼠の脳に移植されたC6大脳神経細胞の培養球を用いる他の研究では、血流は正常な鼠の脳よりも生存腫瘍で一層緩やかとなる。微小血管の容積率は腫瘍と正常な脳との間で等値となる。しかし、腫瘍のはば50%のみが活性的に滲流するため、腫瘍の滲流した微小血管の表面積は正常な脳のもの1/2であった。これらの変化は腫瘍に比較して正常な脳により一層迅速にクリアされるようになる。

腫瘍毛細血管の透過率は正常な脳のものよりも著しく高い。これら毛細血管の機能不全によって大きな粒子の浸潤を生じ、その結果水腫が生じ、且つ腫瘍の微小血管を囲む割込み圧が増大するようになる。腫瘍の微小血管は正常な細動脈の

平滑筋を含まないため、これらも圧力傾度の局部創傷を有さなくなる。これによっても腫瘍組織に血流停止を生じるようになる。染料滲流の総合効果によって正常な脳のものよりも走行時間が長く且つ腫瘍組織からの大きな光学信号の持続時間が増大して長くなる。かかる理由によって染料滲流中にみられた腫瘍および正常な脳からの光学信号のダイナミックな変化を支持するようになる。この場合腫瘍組織にはば等価な吸引および充分に緩やかな走行時間が生じ、従って光学信号に長い増加が生じる。また、脳窓を囲む組織は機能不全の毛細血管なく割込み圧の増加が期待され、且つ腫瘍組織が光学変化の中間期間を有すると云う事実に従って他の微小血管系が変化するようになる。

正常な脳からの染料の一層迅速なクリアランス機構が発生するかどうか、または染料が腫瘍細胞によって好適に攝取されるかどうかは明らかではない。後者の場合にはヘマトポリフィリンが腫瘍細胞内に好適に吸収されるようになるとともにかかる細胞にフォトダイナミック療法を用いる可能性を考慮する。染料が腫瘍内に完全に吸収する場合には正常な細胞および腫瘍細胞間に染料の極めて不均一な分布が期待されるようになる。しかし、一層大きなバイブル微小血管間の領域からとられた中間像からはその反対のことが観察された。

さらに、本発明によれば繊維でんかん活動の領域のような皮質機能領域および機能不全領域を撮像する方法を提供する。この方法によれば特定の皮質機能不全をマッピングし、またはてんかん患者のてんかん活動の位置である機能亢進領域を確認する感知信号を導入する。皮質のてんかん発作領域は自然に一層活動的なものとして可視化され且つ皮質活動の内在信号をマッピングする方法を用いる本発明方法によって撮像することができる。

内在信号を可視化する方法には待定のパラダイムによって皮質組織を刺激することが含まれる。種々のパラダイムは例えば物体の絵を患者にみせ、且つ物体の名称を患者に尋ねてニューラル活動を変更し、これにより間接する内在信号を形成する。

本発明方法および装置の他の特徴は抹消神経の損傷およびスカーリングを撮像し得ることである。中枢神経系および抹消神経系(PNS)の神経は損傷後に再生する可能性によって特徴づけられている。損傷した抹消または顕蓋神経を蘇復

する手術中内在信号のブロックの領域を撮像することによって神経損傷領域を撮像することができる。例えばこの神経は注目部位に露出される。神経は損傷箇所の上流を刺激する。活動的な神経経路は活性化後の処理された差分フレームの内在信号によって識別する。神経損傷またはブロックの箇所は損傷箇所の内在信号に対する急激な増幅または下降によって明らかである。斯様にして外科医は神経損傷が存在する箇所の情報を実時間で詳しく得ることができ、可能であれば損傷を修復することができる。

さらに、神経組織を囲むかまたこれに隣接して位置する腫瘍組織を除去する必要がある場合には、本発明装置および内在信号を撮像する可能性を用いることができる。例えば、脳神経組織と称される腫瘍は通常内耳(聴覚)神経を囲んで位置している。内耳神経(脳神経)を損傷することなく、且つ耳を難聴にするかまたは頭を動かす筋肉を刺激する顔面神経を損傷することなく腫瘍組織を除去するのは困難な処置である場合が多い。本発明方法によって染料を用いる神経組織の周囲から腫瘍組織を識別する可能性を提供する。さらに、本発明方法によれば、内耳神経用の音響パラダイムにより神経を連続的にまたは周期的に刺激するか、または顔面筋から顔面神経を運動させ、且つ神経活動に関連する内在信号を検出することによって内耳神経または顔面神経の正確な位置を示す情報を外科医に連続的に示すことができる。従って、神経組織の最も近くに腫瘍組織が存在する場合には染料により腫瘍組織を位置決めとともに同一の撮像装置を用いる内在信号を検出することによって神経組織を位置決めすることができる。

撮像方法によって注目部位の表面の情報を得るとともに組織の深いレベル箇所において注目部位をターゲットすることができる。像(平均化像)および次の平均化像)を形成するためには用いる電磁放射線の長い波長を用いて組織の深い箇所に存在する注目部位をプローブする。さらに、500 nmで見られる像および700 nmで見られる像間に差分像が得られる場合にはこの差分像は組織の光学的スライスを示す。さらに、カットオフフィルタを用いる代わりに、染料の導入を電磁放射線の組織フィルタとして作動させて注目部位にフィルタを設ける。この場合には、長期間に亘り腫瘍または正常な組織に残留する染料を用いる必要がある。さらに本発明方法によれば、腫瘍組織から得た像または内在信号差分像の感度

およびコントラストを増強するに当たり、(a)少なくとも電磁放射線の第1波長および第2波長を含む放射線の複数の波長により注目部位を照射し、(b)電磁放射線の第1波長から得た第1フレーム列および電磁放射線の第2波長から得た第2フレーム列等を含む電磁放射線の各波長に相当するフレーム列を得、(c)第1フレーム列、第2フレーム列等を処理して第1平均化像、第2平均化像等を形成し、(d)内在信号を刺激するかまたは腫瘍組織像に対する染料を導入し、(e)電磁放射線の第1波長を用いる第1列の次のフレーム、電磁放射線の第2波長を用いる第2列の次のフレーム、等を得るとともに第1、第2等の次のフレーム列を処理して第1、第2等の次の平均化像をそれぞれ形成し、(f)第1の次の平均化像、第2の次の平均化像、等から第1の平均化像、第2の平均化像、等をそれぞれ算出する第1の差分像、第2の差分像、等をそれぞれ形成し、(g)第2の差分像に對する第1の差分像の比をとることにより増強された差分像を得るようにする。この方法は例えば電磁放射線の2つの单一波長源によるか、または電磁放射線の広い多波長源および複数の長波長フィルタを用いることによって達成することができる。好適には、注目部位を照射する単色電磁放射線をレーザ源とする。

内在信号および腫瘍組織を撮像する本発明装置および方法は外科処置設定の外部で用いることができる。特に、無損傷皮膚および骨を経る腫瘍撮像を行うことができる。被検体のある領域では、長い波長の可視光および近赤外電磁放射線を、乳房組織のようなかかる撮像組織に容易に通過させることができる。染料を注入すると、腫瘍組織のような脂肪血管部位を確認することができる。

本発明方法の他の例では、抗体のようなターゲット分子に共役の電磁放射線吸収、即ち、蛍光染料、または特に腫瘍細胞の抗原表面マーカーに特定のモノクローナル抗体またはそのフラグメントを用いるようにする。蛍光染料の励起波長(放出波長ではない)を含む電磁放射線によって注目部位を照射する。この照射は電磁放射線源上にカットオフフィルタを用いることによって行う。好適にはCCDカメラを像増強器またはマイクロチャネルプレート(例えば、K5-1381ビデオスコーピンクーナショナル、ワシントン、DC)に結合してシステムの感度を数オーダー増大し、且つこれに加えた蛍光染料を育する細胞を可視化する。タ

特表平7-507472 (12)

知覚刺激を行うとともに本発明方法および装置で説明された説明内在信号を重心性知覚刺激に含まれる皮質の領域を光学的にマップする。

例えば、腫瘍の外科的摘出中、外科医は皮質のどの部位が麻酔された患者の脚部からの知覚入力の処理に含まれるかを知る必要がある。従って外科医は振動刺激のような求心性知覚入力を脚部に供給して情報の伝達を脚部の知覚処理に含まれる皮質の該当部分に生ぜしめるようにする。この知覚刺激は本発明方法および装置を用いてマップし得る皮質の適宜の領域を活性化する。求心性知覚入力の他の例によれば、脳中権を活性化するために音響的刺激を行うとともに頂中権をマップするために視覚刺激を行い、しかも間接等を動かすようにする。この方法は麻酔された患者のある機能部位をマッピングするのに有利である。

さらに、腫瘍部からの試験切除を行う際に手術中の外科医の手助けとなる方法を実現する本発明装置を使用することもできる(例えば、図12参照)。腫瘍の外科的摘出後、外科医は腫瘍摘出部のどの部位が腫瘍組織の残存物を含むかを識別し得るようにする。これが重要な理由は、多くの腫瘍の型において、手術後の照射および化学療法の有効性を腫瘍組織残存量に対して相関すると考えられるからである。腫瘍のこれら残存物を確認する現在の技術では、外科医は僅かな量の組織を任意のサンプリングで取出して剖検者への検査用としてこれらサンプルを送るようにする。このサンプリングおよび検査は外科手術中に実行する必要がある。その理由は外科医はこの情報に基づいてどの組織をさらに削除する必要があるかを決定する必要があるからである。この技術によれば、外科手術に必要な時間が増大して費用が嵩み、且つ患者への危険が増大する等のいくつかの欠点があり、しかも、試験切除を決める任意のサンプリング法はサンプリング誤りが避けがたいものとなる。本発明によれば、腫瘍部の内の残存腫瘍組織の位置を迅速に決める方法を提供する。これは、組織のどの部位を腫瘍組織が含まれるものとして最もに排出する必要があるかに関する外科的決定の手助けとなる。

例 1

この例は皮質の直接の電気的刺激による被検体の光学変化を示す。皮質表面の電気的な記録(表面EEG, ECOG)は光学変化と相関する。図1および2は

一ゲット分子と共にとなり得る蛍光染料の例は例えばモレキュラー・プローブ・ユーゲン・ORから販売されているカスケードブルー、テキサスレッドおよびシリカーエロー・CHである。

本発明装置はさらに他の用途に適用することができる。例えば装置を皮質(例えば、図1および2参照)の電気的刺激に用いる電極の校正に使用することができる。覚醒中の皮質の機能的体制をマップするために外科医が現在使用している技術は皮質の表面に(刺激電極を経て)電流を直接供給することである。外科医はてんかん発作をトリガすることなく、または組織に損傷を生ぜしめることなくできるだけ最大強さの刺激電流を供給するようとする。刺激電極を校正する方法としては、外科医は、可変強度の電流を患者の皮質に供給するとともに患者の脳の表面に直接載置された記録電極の出力を観察しながら電気的活動をモニタする。外科医は刺激電極により数秒間電流を供給するとともに刺激停止後のある期間に亘り持続して得る刺激前のてんかん活動に対し記録電極からの出力をチェックする。本発明装置によれば、電極刺激電流により皮質が受ける空間程度および刺激電流停止後持続する刺激で説明された活動の時間コース(所見に応じ)をモニタする正確な手段を設ける。この方法では、刺激前の頭部像を得、次いで刺激中または後に次の像を得る。像はここで説明したように処理して休息活動が供給された刺激電流により影響を受ける皮質のこれら部位の高解像度空間マップを提供する。また、本発明装置は外科医が電極に対する適宜の刺激電流を選択するために用い得る刺激およびてんかん活動の空間的程度および時間コースのマップを提供する。

さらに、血管の血流のダイナミック変化および内在光学変化を用いる皮質活動を瞬時空間マッピングする本発明装置を使用することができる。(例えば、図1および2参照)。理論によって規制されることなく、大きな血管の領域内の内在光学変化は、これら血管内の血流速の変化割合に依存する。本発明によれば個別の血管内の血流速の変化をモニタする方法を提供する。

また、本発明は神経外科処置中麻酔をかけられた患者の皮質の機能体制をマップする方法を実施する装置を使用することもできる(例えば、図5参照)。この方法によれば、求心性知覚入力を処理するに特定の皮質領域を活性化する求心性

皮質の直接の電気的刺激中およびてんかん発作活動中、人の皮質の内在光学性質のダイナミック変化を示す。図A, B, C, およびDは本発明装置を使用して覚醒または麻酔神経外科処置中人の皮質の内在光学変化の高空間解像度を有するダイナミック情報を提供する代表的な光学像撮像法を示す。図1において、内在信号変化は刺激-電極「校正」中、覚醒された患者に説明する。4つの刺激試行は皮質表面に逐次供給し、各刺激によっててんかん発作を説明する。刺激試行は次のものから成る。(1)ある期間に亘り記録電極の出力を観察することにより休息皮質活動度をモニタし、(2)電流を刺激電極を経て数秒間に亘り皮質表面に供給し、(3)刺激停止後ある期間に亘り記録電極の出力をモニタする。

一連の像(各像は30Hzで得られた12フレームの平均値より成る)は4つの刺激試行の各々に亘る。最初の3つの刺激試行に対しては6mAの電流を用い、4番目の刺激試行に対しては8mAの電流を用いる。一連の3~6個より成る平均化頭部像を得た後、放電活動後にてんかんが説明されるまで(表面電極によって記録される)、バイポーラ皮質刺激電流(6mAまたは8mA)を供給する。像は4つの刺激試行の各々に連続的に得られた。

各像素に対する光の吸収変化度を4つの刺激試行中に得られた各像に対し計算する。(図1Aにマークした4つの正方形領域によって示される)4つの部位に亘る平均変化度をこれら4つの空間的部位に発生するダイナミック変化の比較および解析のために、図1B, 1Cおよび1Dにグラフ的にプロットして示す。

図1Aは1つの記録電極(r)と、2つの刺激電極(s)と、これら領域全体に亘る吸収の平均変化度が決まる4つの箇所(4角枠で囲んだ領域1, 2, 3および4)とを有する顔面運動皮質の直前の人の皮質を示す。皮質は電磁放射線>690nmで照射した。スケールバーは1cmである。

図1Bは図1Aに示す4角枠1および3の空間領域における電磁放射線吸収の変化度(毎秒)をプロットして示す。両領域に対し、ピーク変化は最大量の刺激電流が誘起された4つの刺激試行(8mA)中最も長いてんかん発作後の活動である。4角枠3内の変化度は4角枠1内の変化度よりも大きく且つ一層長かった。4角枠3はてんかん病巣領域(患者のてんかんに対し応答可能な組織の動起可能な領域)上に位置していた。

図1Cは図1Aに示す4角枠1および4の空間領域における電磁放射線吸収の変化度(毎秒)をプロットして示す。4角枠1は2つの刺激電極間の皮質組織の領域上に位置し、4角枠4は血管上に位置する。4角枠4内の変化度は4角枠1よりも充分大きく、その反対方向にある。また、これらの変化度は刺激電流およびてんかん発作後の活動の大きさによって等級化される。4角枠4内の変化度は血管内の血流速度の変化に著しく依存するため、このプロットは本発明が皮質活動および血流を同時にモニタし得ることを示す。

図1Dは図1Aに示す4角枠1および2の空間領域における電磁放射線吸収の変化度(毎秒)をプロットして示す。これら2つの領域が互いに近接しているにもかかわらず、これらの光学的变化は6mAの電流を用いる最初の3つの刺激試行中反対方向にある。4角枠2の領域内の負に向かう変化は本発明を用いて皮質活動および動起の禁止をモニタすることができることを示す。

本例で記載された全ての撮像処理および患者の承認フォームはユニバーシティ・オブ・ワシントン・ヒューマン・サブジェクト・REVUE・コミッティによって再検査され、且つ承認された。全ての患者は外科手術および撮像の実験の双方に対するインフォームド・コンセント・ステートメントを署名した。皮質は直流調整電源(Lambda, Inc.)により制御され且つ695nmロングパスフィルタを通して通過したビームスプリッタを通過するファイバーオプティック電磁放射線によって均等に照射した。像は特別に修正されたシニアダブタにより手術用頭頸鏡に固定されたCCDカメラ(COHU65000)により得た。皮質はガラスフロートプレートによって安定化した。像は30Hzで得て、8ビット(Imaging Technology Inc. Series 151 system, Woburn MA)を用いる512×480像素でデジタル化した。幾何学的変換を像に適用して患者の動きの少量を補償する(Wohlbier, "デジタル像ワーピング" I.E.E.E. Computer Society, Los Alamitos, CA, 1988)。制御像による次の除算により制御状態中に得た像から刺激状態中(皮質表面刺激、舌の運動またはネーミング中)に得た像を減算することにより差分マップ度を得た。生のデータ(即ち、デジタル化しない)は特定の領域(平均寸法の4角枠は30×30像素または150~250μm²)の平均光学変化を決めるために用いた。疑似カラー像に対しては、線形ロウパスフィルタによって高周波雜音を除去する

特表平7-507472 (13)

とともに線形ヒストグラム変換を適用した。維音は這次得られた制御像の変動の標準偏差として規定し 0.003-0.009 とした。

刺激電極（図 1 A の箇所 #1）および近くの記録電極（#3）間の光学変化は各でてんかん発作の強度および持続時間に対する等級化応答を示した（図 1 B）。てんかん活動の空間程度は刺激前に得られたベースライン像と刺激直後に得られた像とを比較することにより示した。光学変化の強度および広がりは刺激 #4（てんかん発作後最長）後よりも次の刺激 #2（てんかん発作後最短）が最も少なかった。光学変化はベースライン以下である場合には表面と ECG 記録はてんかん発作活動 ($n = 3$ 患者) を確認しなかった。図 2 A 1 の箇所 #3 では刺激後の光学変化はベースライン以下（図 2 A 3 のブラック領域）であった。しかし、第 4 の刺激中箇所 #3 の部位内に広がったてんかん発作活動および光学信号は今までベースライン以下とならなかつた（図 1 B の箇所 #3）。この負の光学信号は禁止された神経母集団（てんかん禁止領域）を表わし、減少した酸素放出または血流が活動化された領域に分流されたことを示す。

図 3 は活性領域およびてんかん発作病棟を識別する光学信号の一連のダイナミック変化を示す。図 3 には前の 2 つの図に示される刺激試行 2 からの 8 つの差分像を示す。各像は 2 秒間隔で得られる。最大の光学変化の病棟領域は、像 3, 4 および 5 の中心において、最大の皮質活動の領域を示す。この領域がてんかん病棟である。光学変化の大きさは図 2 にグレイースケールバーで示す。各像はほぼ $4 \text{ cm} \times 4 \text{ cm}$ の皮質の領域を示す。

図 4 は人の皮質における刺激誘発光学変化のダイナミック変化の実時間シーケンスを示す。図 4 のパルル～8 は各々が 8 フレーム ($< 1/\text{秒}/\text{像}$) の平均値である 8 つの連続する百分比像を示す。各像はほぼ $4 \text{ cm} \times 4 \text{ cm}$ の皮質の部位にマップする。

図 6 において、皮質表面の刺激マッピングは局部麻酔状態の覚醒患者に施して知覚／運動皮質および Broca's 領域を確認した。3 つの“舌ウェイギング”試行中は平均化（32 フレーム、1 秒）され、2 秒毎に記録する。舌運動試行は、休息中に 5 ～ 6 個の像を得、次いで 40 秒中に患者が舌を上顎に運動することを要求する像を得、その後回復期中像を連続的に得ることにある。次いで同一の患者は

“言語ネーミング”試行を行うことを要求した。言語ネーミング試行は、休憩中に 5 ～ 8 個の像（制御像 - 患者が一連のブランクスライドを黙ってみる）を得、次いで患者が（Broca's 領域で大きな応答を誘発するように選択された 2 秒毎にスライドプロジェクタに存在する一連の物体をネーミングする）ネーミングパラディグムで試行した時間周期中像を得。患者がネーミングタスクをやめるとき（沈黙を守りながらブランクスライドをみる）に次ぐ回復期間中一連の像を得ることにある。像 A 1 および B 1 は人の皮質の領域のグレイースケール像であり、左側は前頭部、右側は後頭部、上側は頂部、下側は底部外側溝である。像 A 1, B 1, A 2 および B 2 の 2 つの星印はこれら像間の基準点である。像 A 1 および B 1 の下側右側のスケールバーは 1 cm とする。像 A 1 において、番号付した 4 角枠は電気刺激電極による皮質刺激によって口蓋側振動（1）、舌微振動（2）、音声停止 - Broca's 領域（3, 4）および無応答（11, 12, 17, 5 - 前運動）を誘発する部位を示す。像 A 2 は 1 つの舌運動試行の休息中の皮質の百分比差制御像である。像 B 2 は 1 つの言語ネーミングタスク中の皮質の百分比差制御像である。像 B 3 は言語ネーミングタスク中の皮質のピーキー光学変化の差分像である。大きな正に向かう信号は Broca's 領域に存在する。負に向かう信号は舌および口蓋感覺領域に存在する。

図 7 は舌および口蓋感覺領域および Broca's 領域で誘発された人の皮質のダイナミック光学的変化的時間コースおよび大きさをプロットして示す。この図 7 には、3 つの舌運動試行の各々および 1 つの言語ネーミング試行中図 6 に示す 4 角枠で囲まれた領域、即ち、像 A 1 および B 1 ないしの組織の光吸收の変化度をプロットして示す。図 7 A は 3 つの舌運動試行中図 6 で示される 4 角枠 1, 2, 3 および 4 内で空間的に平均化された像 A 1 をプロットして示す。図 7 B は 4 角枠 1 ～ 7 および 17 内で空間的に平均化された言語ネーミング試行の 1 つを示す。これ

らの結果は指の運動中知覚皮質にいい気な電位が存在することを報告したリードによりレポートされたデータと一致する (Ann. Neurol.)。舌の運動中知覚皮質の光学変化の大きさ (10 ～ 30%) は運動タスク中脳血流が 10 ～ 30% 増大する知覚／運動皮質の研究と一致する (Colebatch et al., J. Neurophysiol. 65:1392, 1991)。さらに、根拠刺激中人視覚皮質の血量容積変化の M.R.I. を使用することにより脳血量が 30% まで増大するようになる (Belliveau et al., Science 254:716, 1991)。

光学像はこの同一の皮質領域から得た（即ち、法目領域）が、患者はブランクスライドを見るとともにスライド上の物体のネーミングは 2 秒ごとに得られた。ネーミング中に得た差分度マップは前運動領域の活動度を示す。音声停止および口蓋運動の箇所は表面刺激で確認され且つ反対方向に向かう光学信号を表わす。活動部位は音声を発生しない舌運動によって誘発された部位とは相違すること明らかである。ネーミング中の前運動皮質活動の光学像は PET 単一ワード処理研究において確認された皮質部位と動搖の箇所にある (Peterson et al., Nature 331:585, 1991 および Frith et al., J. Neurocytology, 29:1137, 1991)。光学変化は Broca's 領域として固有的に規定された皮質部位で最大となり、電気的刺激により音声停止を行なう部位では最大とならなかつた。

図 8 は覚醒した人の言語理解 (Wernicke's area) に重要な皮質領域の光学的マップを示す。図 8 の像 A は患者の皮質表面を示し、その解剖学的指向は左側が前頭部、下側が下部、上側が外側溝が走っている。光学的撮影後太いラインの左側の皮質組織全部は外科手術的に残存している。箇所 #1 および #2 は音声に対する本質的なもの（例えば、ノーム物体に対する被体の皮質刺激のブロックされた可能性）として識別される。箇所 #3 では 3 つの刺激試行における 1 つのネーミング誤差を見いだした。外科手術的摘出が太いラインの星印でラベルされた領域に到達すると、患者の言語は劣化する。図 A のラベルを付していない箇所全部は誤りは無いが皮質刺激中スライドをネーミングする。図 8 の像 B は言語ネーミング試行中に得られた皮質のグレイースケール像の差分度像のオーバーレイを示す（言語ネーミング試行を説明している図 6 参照）。光学的変化の大きさはこの像の右側にグレイースケールバーで示す。この像は外科医がこの説明を手術

に用いて言語皮質をマップする手段を示す。

図 9 は Wernicke's area (言語理解) で誘発された人の皮質のダイナミック光学的变化の時間コースおよび大きさを示す。図 9 A には図 8 に示す 4 角枠で囲まれた領域内の組織の光吸收の変化度をプロットして示す。4 角枠 1 および 2 のプロットは本質的な言語箇所上に位置し、4 角枠 4, 5 および 6 は第 2 言語箇所上に位置する。これら 5 つの箇所の各々の表示は患者が言語ネーミングタスクを行っている間に発生した著しい変化を示す。図 9 B は図 8 に示す 6 つの番号付していない 4 角枠からの変化度を示す。これら前部箇所内では充分な増減はない。

图 2

本例は低級腫瘍のインドシアニングリーン像を示す。手術前に M.R.I. を行った。更に、患者を例 1 に使用した上述した本説明装置を用いて腫瘍組織について検査した。

興味のある特定の大脳皮質表面区域の平均制御像が得られた。インドシアニングリーン染料を時刻 0 において抹消静脈カテーテルに塗りとして導入した。図 10 は低級 C.N.S. 腫瘍を識別する染料のダイナミック差分像を示す。この一連の像は低級 C.N.S. 腫瘍（虫状包物、零缺）を有する患者から得られたものである。図 10 A (左上) において、外科医が脳の上に付けた文字ラベルは腫瘍上にあって手術中に超音波により識別される。しかし、このタイプ及び等級の腫瘍は、腫瘍の外科的除去を始めたら正常組織から識別することは困難であることが知られている。図 10 B (中央左) は染料 ($1 \text{ mg}/\text{kg}$ のインドシアニングリーン) の静脈注入から約 15 秒後に得られた差分像を示す。図 10 C (左下) は染料注入の約 30 秒後の差分像を示す。腫瘍組織の部分が第 1 級組織の染色状態を示す。図 10 D (右上) は、この低級腫瘍において、染料注入の 45 秒後における全ての組織（正常組織及び異常組織）の染色状態を示す。図 10 E (中央右) は染料注入の一分後の差分像を示し、図 10 F は染料注入の 5 分後の差分像を示す（この低級腫瘍では完全なクリアランスを示す）。これらのデータは、インドシアニングリーンは正常組織より遅く低級腫瘍組織内に侵入し、正常組織からよりも良性腫瘍組織からのはうが除去に時間がかかる事を示す。従って、この装置によれば低級腫瘍でも識別することができる。更に、低級腫瘍組織を周囲の正常組織から手術中に

特表平7-507472 (14)

識別することができる。

從って、本発明装置によれば低級腫瘍でも撮像することができる。この腫瘍組織の次の病理学検査によりこの腫瘍が低級腫瘍であることを確かめた。

例 3

本例は極めて悪性のCNS腫瘍（神経膠腫）の像を示す。患者を例1につき述べたように神経外科方法で撮像した。腫瘍撮像方法は例2と同一にした。図IIに示す一連の像は悪性CNS腫瘍（神経膠腫、星状細胞腫、等級IV）を有する患者の皮質から得られたものである。図IIA（左上）は、悪性脳腫瘍組織が中心から右に集中しているが他の部分はほぼ正常であるグレースケール像を示す（このことは術後1週間に病理学的スライドにより確かめられた）。図IIB（中央左）はインドシアニングリーンの静脈注入の15秒後の差分像であり、悪性組織内の最初の数秒における染料灌流が正常組織線内の最初の数秒における染料灌流（図IIC参照）と同様であることを示す。図IIC（左下）は、30秒後において悪性腫瘍は正常組織に比べて著しく色が濃くなることを示す。図IID（右上、染料注入の1分後）及び図IIE（右下、染料注入の10分後）は、良性腫瘍組織と異なり、悪性腫瘍組織では染料が著しく長く保持され、場合によっては悪性腫瘍組織内に長期間に亘って保持されづける。従って、この装置によれば悪性腫瘍組織を識別し、手術中に正常組織と悪性組織とを区別することができるとともに、種々の等級の腫瘍（例えば正常対良性対悪性）を区別することができる。従って、腫瘍組織の位置を撮像しうるのみならず、悪性腫瘍は低級腫瘍より長期間染料を保持することから腫瘍を等級付けすることもできる。

例 4

本例は組織が正常に見えるようになるまで悪性CNS腫瘍を切除した後の一連の像を示す。腫瘍部のこのタイプの撮像は腫瘍部のリアルタイム撮像の新規な方法を提供する。切除後に外科医が多数の組織サンプリングを行い、凍結切片の検査結果を待っているあいだに、図13に示す像が得られた。図13は腫瘍を切除した注目部分の一連の差分像を示す。注目の部分には腫瘍が外科的に切除された後は腫瘍組織が無いものと考えた。通常、このサイズの切除部では、単一の凍結サンプルが病理学検査に得られるだけである。この研究のために、組織学を本

、又は（c）像がその全ダイナミックレンジに亘って最大に増強されるまで繰り返す（CCB利得、黒レベル又は電磁放射源のこれ以上の調整は像を改善しない）。5. ステップ4において、（a）利得がその最大レベルにセットされ、又は（b）黒レベルがその最大レベルにセットされたが出力像がまだ最大に増強されていない場合、（a）の場合にはCCBのセッティングを僅かに減少させ、電磁放射源強度を明端で丁度飽和するまで増大させる。（b）の場合には、黒レベルのセッティングを僅かに減少させ、電磁放射強度を増大させ、ステップ3に戻る。

例 6

この例は本発明方法および装置が腫瘍組織を全焼出することに関する実時間情報を外科医に提供するように手術室内において設定機能するかどうかを検査するようにした手術中の臓器経験モデルを用いる一連の実験を示す。臓器経験モデルは標準予測モデルであり、最良の像が得られる光学撮像の染料込み、クリアランスおよび結合パラメータを描くために用いた。このモデルの利点は腫瘍を撮像的に再現可能にするとともに手術用顕微鏡下で腫瘍を撮出し、しかも本発明光学撮像により残存腫瘍を見出す点である。この方法の欠点は腫瘍が一層肉瘤状に見えるとともに人間経験と比較して血管の大きさが小さいことである。

要するに、臓器経験は脊髄悪性星状細胞腫のクーロン集団から発生したエチルニトロソウリア誘導F-344臓器腫瘍を用いる。この腫瘍は特に人星状細胞腫に類似的傾向である。その理由は双方が解剖実験において星状細胞を育てており、且つ双方が電子顕微鏡の走査により見られるように直径80-100 μmのインクトロサイトプラスミックフィルクを有するからである。神経膠腫細胞は10%牛胎児血清が補充されたウエイマウス媒体に保持される。生筋細胞（ 5×10^4 ）は单層培養から抗トリプシン性を破壊するとともに各々が140-160 gの30シシゼネイク頭鼠の右脛半球部内に定位固定的に埋植する。右側前頭ロープ埋植の定位固定的座標は前頭骨面に対し4.5 mmの前壁中央から3 mm、深さが6 mmであった。この鼠は埋植時麻酔されていた。頭部は毛を剃り、頭皮を開き、適宜の座標位置に1 mmの穿孔した。細胞は27ゲージ針により注入し、左側に30秒後注入を行い、孔を骨ワックスで塞いだ。頭皮を縫合し、この鼠を通常の活動および給餌となるまで304時間観察した。個の鼠は腫瘍発現後10-14日を使用した。このモ

発明で得られるマップと関連させるために縁部から5つの生検組織を取り出した。図12A（左上）は腫瘍組織のグレイスケール像を示す。図12Bは外科医が縁部の上に直接重ったラベルを有する縁部を示す。これらのラベルの目的は、本発明装置により差分像を得た後に外科医が組織検査のための病理学サンプルを除去しようとする部分を識別するためである。図12C（左下）は染料注入の1分後の差分像を示し、図12D（右下）は染料注入の10分後の差分像を示す。これらの染料注入後の差分像は腫瘍組織及び正常組織の部分を含む複数の像を示す。光学撮像の精度は病理学的検査により後で確かめた。図12Dの右下の部分は外科医により生検されなかった腫瘍組織の領域を示すことに注意されたい。従って、広範な生検の場合でも、サンプリング誤差が本発明の精度を越える。これらのデータは、本発明は腫瘍の切除後に腫瘍縁部の小さな残存腫瘍組織を識別することができるることを示す。また、本発明は腫瘍縁部からの生検組織の取り出しを助けるとともに現在使用されているサンプリング技術と関連する固有のサンプリング誤差を低減することができる。

例 5

本例は、全ダイナミックレンジに亘って最大強度を有する信号を検出しうるよう装置を最適化するCCDのセッティング手段を示す。CPUは次の特徴：（1）出力アナログ信号、明端に近い（即ち225に近い）画像値をはっきりとした色（例えば赤）で表示する；（2）暗端に近い（即ち0に近い）値も青のようなはっきりとした色で表示する；を有するソフトウェアでプログラムする。CCDカメラの調整手順の一例は次の通りである。

1. カメラ制御ボックス（CCB）の利得及び黒レベルが0に初期設定されている場合、電磁放射強度を、ビデオ信号が明端で丁度飽和するまで（即ち、出力アナログ像内の幾つかの値が255に近似して見えるまで）増大させる。
2. CCBの黒レベルを、出力値が暗端で飽和して見えるようになるまで（即ち、出力アナログ像内の幾つかの値が0に近似して見えるまで）増大させる。
3. CCBの利得を、出力アナログ像内の幾つかの値が明端で飽和して見えるまで増大させる。4. ステップ（2）及び（3）を、（a）利得がその最大可能値にセットされるまで、又は（b）黒レベルがその最大可能値にセットされるまで

ルでは、鼠は、活動および給餌増大のような腫瘍注入から16-18日後臨床的症状を開始し、腫瘍影響によるマス効果から18-27日の間に片側麻痺し、ついに死亡した。

14匹の鼠によって腫瘍の摘出前および後の像を含む完全な研究を行った。研究のために、鼠は2%イソフルレインで麻酔し、大脳動脈は染料の導入管に用いた。麻酔はα-クロラルソ（50mg/kg、i.p導入）およびケレタン（160 mg/kg、i.p導入）により保持した。鼠は定位固定のホルダに入れた。次いで、頭蓋の除去前（例7以下）および後に撮像の研究を行った。腫瘍は前頭半分および右半球部の2/3を占めた。腫瘍に何ら汚染されていない圧迫された脳は腫瘍包囲として確認され、対側側の正常な半球部から腫瘍を分離していた。静脈染料としてインドシアニングリーンを用いた。導入後脳脊髓液には染料は何ら見いだせなかった。

皮質表面をまず最初撮像し、次いで、手術用顕微鏡を用いて腫瘍の全焼出を試みた。次に、光学撮像結果に基づく生検用の部位を選定し、その後組織検査を行った。生検試料は10%ペラフォルマルマルデハイドでは固定し、ニッスル染色し、脱水した。全ての試料は盲検し、腫瘍に対して正または負のラベルを付した。これらのデータを光学撮像結果と組合して残存腫瘍および結果の有効性を決めるため行う統計解析とを確認した。

撮像装置を以下に述べる。光は直進電源により調整されたタングステン-ハロゲンランプから取出し、ロングパスフィルタ（680 nm）を通過させ、50または100 nm対物レンズを経て反射された直角プリズムを経て皮質表面に入射させる。反射光は同一の対物レンズにより捕捉され投影レンズによりCCDカメラ（COHU63000）の表面に収束される。撮像装置は定位固定フレームに面着し、このフレームは耐振動テーブル周囲に固定する。空間的に設計された自動ラッピングアルゴリズムによって少量の動きに対する補償を行う。像は30Hzで得られ8ビット（256グレイレベル）でデジタル化された。2秒毎に30平均化フレームを異なる单一像を得（1秒）、記憶（1秒）した。創創像は染料注入前に得、次いで染料注入後2分に再び得る。染料注入は1秒に亘って行うとともに最後の創創像を記録する。創創注入間の時間を20分として光学像をベースラインに戻すように

特表平7-507472 (16)

する。各試行の初期制御像は互いに差し引いて各試行のベースライン開始点が等しくなるようにする。

單一制御像を選択し、制御像（4-6像）の各々および制御注入後の像の各々から差し引く。かくして得た像は元の制御像により除算し、且つ100倍して染料注入前後の全シーケンスに亘り合成差分度を得るようにする。分離制御像間に生ずるピーク変化は0.1-0.7%であるが、染料注入によるピーク変化は図に示す通りである。像の個別の空気の空間解像度は $13.5 \times 11.7 \mu\text{m}^2$ であった。側部当たりの15-30画素から測定した4角枠を像上に示す。個別の4角枠の平均変化度を計算し、これを用いて種々の型の組織での時間に対する光学変化をグラフ的に示す。

撮影研究は14匹の鼠により行った。組織の染料濃度の時間コースはダイナミクなものであった。8匹の鼠の皮膚からの16回の試行のうちの1mg/kgのドーズ量でのインドシアニングリーン染料濃度による光学像は光学変化的ダイナミック特性を示す。図16は注目領域のグレースケール像を示す。図16Aは注目部位のグレースケール像を示す。これは図14に示す鼠と同一の鼠の像であるが、頭蓋は神経膠腫を含む左側半球部を露出するために除去するが右側半球部には正常な組織が含まれている。4角枠1は腫瘍上に置き、4角枠2は腫瘍の周囲に置き、4角枠3は正常な組織上に置く。図16Bは1mg/kgのインドシアニングリーンが鼠に静脈注入した後1秒経過した注目部位の差分像を示す。この初期時間中、腫瘍組織はまず染料の取込みが腫瘍組織に生ずることを表す可変可能な光学の変化を最初に示す。グレースケールバーは差分像の列の光学的変化の相対的な大きさを示す。図16Cおよび図16Dは染料注入後それぞれ1秒および30秒経過した注目部位の差分像を示す。これらの中間段では染料は正常組織および腫瘍組織の双方に集まる。図16Eおよび図16Fは染料注入後それぞれ1分および5分経過した注目部位の差分像を示す。これら後者の時間では染料は、これが正常組織から清浄になっていくも、いまだ腫瘍組織に集まっていること明らかである。

ピーク光学変化は染料導入から6秒後に発生したが、正常な半球部が染料をクリーンにした後腫瘍組織は染料クリアランスがないため、大きな光学量を保持し続ける。これらの変化は腫瘍部位に対しては解剖的に局在するものである。

光学信号は染料注入後2-3秒内で変化し、全部で3つの部位、腫瘍組織、腫瘍周囲および正常な頭蓋注入後6秒でピークとなる。しかし、3つの異なる組織の型は最初の4秒に亘って上昇してピーク光学変化に到達し、平坦な台部は最初の30秒後に生ずる。腫瘍組織は腫瘍包囲部（16.4±0.8%）または正常な脳（9.7±4.7%）よりも著しく異なる差分変化度（40.5±9.6%）を有する。

図17は図16Aからの4角枠1、2および3によって示される空間領域に亘る電磁放射線吸収平均の変化度の平均値をプロットして示す。吸収の増大は特定時間における組織中の染料濃度の閑数である。グラフ“腫瘍組織”は図16Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示し、グラフ“正常な脳”は図16Aから得た4角枠3内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示す。データおよび図16からのデータは本発明方法および装置が非腫瘍組織から腫瘍のみでなく、腫瘍細胞対正常な細胞の可変密度を含む腫瘍部位-包囲部位をも識別し得ることを示す。

ピーク光学変化は染料注入後4-6秒で常時到達するため、腫瘍包囲部または正常な脳と比較して腫瘍組織の光学変化度は著しく迅速であった。腫瘍組織への染料濃度の一層迅速な割合は迅速な時間コースとして表示する。腫瘍組織の立ち上がり時間は腫瘍包囲部および正常な脳よりも一層迅速且つ大きかった（ $p < 0.01$ ）。14匹のうちの13匹の鼠では、正常な組織および腫瘍包囲部がベースラインに戻った後の腫瘍の光学信号が大きく増大（>2分）した。最後に正常な組織および腫瘍包囲部も染料取込みが著しく相違した（立ち上がり時間、正常2.4%/秒、腫瘍包囲部4.0%/秒）。従って正常な取込みおよびクリアランスのダイナミクスは切除頭部を撮像する際に含まれる組織の型を決定するのが臨界的となる。

この鼠神経膠腫モデルはすべての可視腫瘍が除去されると、摘出頭部を撮像する機会が得られることである。図18は切除された腫瘍組織部の腫瘍細胞の残留跡跡を表す染料取込みのダイナミック像を示す。これは図14-17に示す同一の鼠での研究の継続である。図18Aは腫瘍が切除された後の鼠の左側半球部の高塗大像を示す。4角枠1は残留腫瘍細胞の僅かな跡跡を含む領域上にあり、4角枠2は正常な組織のみを含む領域上に位置する。グレースケールバーは差分像の光学的

変化の値を示す。図18B、図18Cおよび図18Dは静脈内染料注入後4秒、30秒および60秒経過した腫瘍組織部の差分像をそれぞれ示す。微細な生検は好適な染料含有を示す領域からおよび染料が急速にクリアされた領域から採取する。これらの生検は穿刺孔、後に生検が採取された箇所と重複する。染料がクリアされた領域から採取した生検は正常な細胞のみが含まれることを示し、染料が滲出した領域から採取した生検は腫瘍細胞のみが含まれることを示す。皮膚表面像に見られる一層迅速な立上がり速度は正常な組織と比較して腫瘍に対して正である摘出頭部も示す。腫瘍および正常な脳の著しい差が立上がり速度、ピーク光学変化および染料注入後60秒経過した台地部に対しても存在する（全て $p < 0.01$ ）。図15-18は腫瘍摘出外科手術全体に亘り繰り返し適用し得る染料の多量注入と組合せて本発明方法および装置を適用し得ることを示す（この場合には染料の4回の個別の注入を行う）。さらに、腫瘍組織部の残留腫瘍の極めて小さい島状部をマップすることができます。

光学撮影の感度および特別性は34個のサンプル（n=12匹の鼠）に対して求めることができる。光学撮影により腫瘍に対して負であるとみられる15個の生検のうち、14個の生検が組織解析により腫瘍からクリアであった（感度93%）。腫瘍に対して負であった試料の大部分が腫瘍摘出部の前壁および深さの箇所からとったものであった（その深さおよび変性凹をしばしば生検した）。光学撮影により腫瘍に対して正であるとみられる19個の生検のうち、17個の生検試料は腫瘍に対して正であった（比率89%）。2つの箇所は組織的には腫瘍に対し負であるが生検的には正であった。その理由は腫瘍組織の病変が存在しなかつたためである。これらの結果のはば大部分は $p < 0.001$ である。

図19は腫瘍組織対非腫瘍組織での染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を示す。これは図18Aから4角枠1および2によって示される空間領域に亘る電磁放射線吸収平均の百分率変化の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の閑数である。グラフ“腫瘍組織”は図18Aから得た4角枠1内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示し、グラフ“正常な脳”は図18Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示す。このデータおよび図19から得たデータは本発明装置

および方法によって極めて高い空間および時間解像度で腫瘍組織内非腫瘍組織から腫瘍組織を識別し得ることを示す。

例 7

この例は本発明方法および装置が外科手術前後腫瘍頭蓋を経て撮像し得るかどうかを検査する鼠神経膠腫を用いる一連の実験を示す。電磁放射線の遠赤外波長が骨および皮膚を経て透過程することは既知である。腫瘍組織の撮像を鼠の無損傷頭蓋を経て行った。腫瘍認定度は皮膚を露出する場合よりも正確ではなかった。しかし、腫瘍組織を有する頭蓋の下側の部位は容易に確認し、局限化し、数分後染料を灌流し続けた。最初染料注入後腫瘍部位を対向側の半球部の正常な脳よりも大きな信号を示した。染料注入後1分で染料は正常な脳からクリーンとなり、残留信号は腫瘍組織内に子午線/垂直線的に残留した。

図14は本発明を用いて無損傷頭蓋による腫瘍を確認し得ることを示す。図14Aは鼠の頭蓋表面のグレースケール像である。縦縫合は像の中央を走っている。腫瘍細胞が数日前に左側に注入され、従ってこの版はその版の左側半部に神経膠腫が発生する。右側半部は正常である。4角枠1は脳の腫瘍の発生領域上に置き、4角枠2は正常な組織上に置く。図14Bはインドシアニングリーン染料が鼠に手術中に注入された後1秒経過した差分像である。腫瘍組織を含む領域は腫瘍頭蓋を経て直ちに見え得るようになる。図14Cは染料注入後5秒で染料が正常な組織および腫瘍組織に充満していることを見ることができる。図14Dは、染料注入後1分経過して正常な組織が染料を清浄にするが、染料は腫瘍組織にいまだ保持されている。この差分像中心の染料の濃度は緩慢で蓄積する染料である。

14匹の鼠で10回頭蓋を経て撮像された光学変化の時間コースを図15に示す。この光学変化は腫瘍上におよび正常な半球部上に直接撮せた4角枠内の平均光学変化によって決める。吸収の増大は特定時間における組織の染料の濃度の閑数である。グラフ“頭蓋腫瘍”は図14Aから4角枠1内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示す。グラフ“頭蓋正常”は図14Aから4角枠2内の吸収変化のダイナミックスをプロットして示す。頭蓋を経て撮像された腫瘍のピーク光学変化は $13.1 \pm 3.9\%$ であり、正常な脳（ $7.8 \pm 2.3\%$ ）と比較して著しく大きい（ $p < 0.01$ ）。染料注入後60秒経過した台地部は腫瘍組織（ $40.5 \pm 9.6\%$ ）が正常な脳

(3.1 ± 0.7) と比較して著しく大きかった

例 8

この例は抹消神経を刺激して知覚皮質を活性化させるネズミのモデルを示す。特に、座骨神経を直接刺激することにより麻酔をかけたネズミに求心性の知覚入力を発生させた。図 5 の最も左側の像は麻酔をかけたネズミの後脚和抱知覚皮質のグレイースケール像である。倍率は個々の毛細血管を区別し得るよう (この像では最も小さい血管を見ることができる) 十分高くする。中央の像は安静中に光学像の制御量の割合を変えた像である。この光学的変化の大きさをこの像の中央にグレースケールバーで示している。右側の像は座骨神経の刺激中の後脚知覚皮質における光学的変化の割合を変えたマップである。従って、本発明による装置及び方法を利用して、被検体の種々の部位に相当する皮質の機能部位をマップすることができる。

例 9

この例は染料の取り込み及び保有に係わる差分ダイナミックにより、慣例の MR ランダムでのコントラストの増強を知らない人間の患者における腫瘍組織を特徴付け、且つ識別し得ることを示す。撮像技法では非良性腫瘍部分を観察することはできない。図 13 の像は患者の腹膜を M.R. でコントラストの増強をはからなかつるものである。このようにコントラストを増強しないことは良性腫瘍では普通である。しかし、光学的撮像は所見の腫瘍を非良性タイプのもの (肛門直腸細胞腫) として識別することができた。図 13 A は注目部位のグレイースケール像を示す。図 13 B は染料注入前の差分像を示す。図 13 C は静脈に染料を注入してから 1 分後の注目部位を示し、図 13 D は染料を注入してから 5 分後の注目部位を示す。なお、染料はかなり長い時間組織内に保有される。図 10、図 11 および図 12 に示すように、このようなダイナミックな特性は非良性腫瘍の特徴である。

例 10

この例では末梢神経の機能部位を撮像した。ネズミに麻酔をかけて解剖して座骨神経を露出させた。銀の電極を用いて座骨神経の後端を電気的に刺激しながら第 1 シーケンスの差分像を得た。刺激によるピーク光学変化を含む種々の像を調

次に、取得した多重波長像からの深度情報の抽出の仕方につき説明する。

光の波長が長くなるにつれて、皮質への侵入深さは大きくなり、光の波長が短くなるにつれて皮質への侵入深さは浅くなる。従って、690 nm 像は光が皮質に x mm まで侵入した像であり、510 nm 像は y mm まで侵入した像であり、ここに $x < y$ である。

510 nm 像から 690 nm 像を差引くことにより、皮質組織内の ($x - y$) mm から x mm までの深度からの情報を含んでいる “光学くさび” が得られる。他の一連の干渉フィルタを用いることによって、皮質の多くの異なる深度からの情報を含んでいる像のシーケンスを得た。こうして 3 次元情報を得ることができる。

次に、腫瘍成長させたネズミの脳底組織を露出させて、上述したすべての実験を繰返して、同様に信号 / 離音比を改善し、且つ脳底組織における 3 次元情報を抽出し得ることを確かめた。しかし、この場合には組織を電気的に刺激する代わりに、インドシアニングリーン又はエビンスブルーの色素を染料として注入した。

最後に非コヒーレントのタンクステンフィラメントランプの代わりに、染料回路可能なレーザ (コヒーレント光源) を用いて種々の波長で皮質を照射することにより上記実験を繰返した。レーザ (又は任意のコヒーレント光源) では、反射又は散乱での変化による信号成分を区別し得るという追加の利点が得られる。皮質をレーザでカメラと平行に直接照射する (レーザ及びカメラは頭部に垂直とする) ことにより、反射光だけを撮像する。レーザをカメラに対して角度θ動かすことによって、この特定角度での散乱光だけによる変化を測定した。

例 13

この例は一対の像を x - y 平面における更後での制御像による最適なものに自動的に変換するための本発明によるアルゴリズム及び戦略を実施する C コードを示す。本発明による装置が順次取得される像を制御像に自動的に変換して、手術室内で動きをオンライン式に補償するようにアルゴリズムを実施することができる。なお、このアルゴリズムは整数演算で行なうことができるため、計算上有効であることは明らかである。又、このアルゴリズムに必要とされる殆どのメモリを効率的に割り当ることができるから、このアルゴリズムはメモリを有效地に使用する。

特表平7-507472 (16)

べることにより、神経の刺激部位から内在光学的変化が広がることが判った。次に刺激電極の前方の近い距離にて神経をクラッシュさせた。次いで第 2 シーケンスの差分像を得て、このシーケンスからの対応する差分像と第 1 シーケンスの差分像からのピーク光学変化を含んでいた像とを比較した。この結果、神経を破壊した個所では本来の光学的変化が急激に減少することが判った。

最後に、クラッシュさせる個所の前方の神経を刺激して、内在光学変化が急速に終了することを再び確かめた。この方法によって破壊又は損傷末梢神経組織の位置及び大きさを局所化することができる。

例 11

この例は頸蓋神経管の機能部位の像を示す。頸蓋神経管 (前庭鱗牛神経) を露出させる。首は最終的にこの神経を活動せる聽覚刺激を与える。適当な聽覚刺激が与えられる前と、その最中と、その後の差分像のシーケンスは、神経の内在光学的変化がこの神経の機能的活動性に関連することを示した。次に、この神経の少量部位をクラッキングにより破壊させた。第 2 シーケンスの像は、第 1 シーケンスの像の破壊個所までその神経の内在光学変化を喚起させることを示した。

例 12

この例は多重波長及び / 又はレーザ照射を用いて腫瘍組織から得た像、即ち内在信号による差分像を増強する様々な方法及び多重波長を用いて 3 次元情報を抽出する方法を示す。麻酔をかけたネズミの皮質部位を露出させた。まず、タンゲステンフィラメントランプからの白色光を照射して、双極刺激電極で皮質のこの部位を電気的に刺激する前と、その最中と、その後における第 1 シーケンスの差分像を得た。その後に、皮質を 690 nm の光で照射して第 2 シーケンスの差分像を得、その後 510 nm の光で照射して第 3 シーケンスの差分像を得た。この波長の変更は、光源と頭部との間に 690 ± 10 nm の干渉フィルタ又は 510 ± 10 nm の干渉フィルタを置くことによって行った。

先ず 690 nm 像を 510 nm 像と比較することによりコントラスト増強像を計算した。次に、刺激中の 690 nm 像を対応する 510 nm 像と比較した。次いで、これらの比較像を合成して百分率の差分像を形成した。この方法では噪音が著しく低減され、従って信号 / 離音比は著しく増大した。

斯るプログラムは撮像技法 1.51 フレームバッファに格納された 2 つの像を最適なものに自動的に変換し、これによりユーザが選択した注目部位における算出像の不一致が最小となる。ユーザはフレームバッファ B1 用の像を特定化し、次いで B1 像に自動的に変換すべきフレームバッファ ALLOW 用の像を特定化する。注目部位の数が 9 個所以下で、しかも探索深度が 8 以下の場合には、全データをフレームバッファからホストコンピュータの RAM に読み込めることがある。こうして、動作速度を向上させ、フレームバッファへの I/O を減らすことができる。このプログラムは全ての計算に整数演算だけを使用するように簡単に変えることができる。

このプログラムは撮像技法の TEXMAN タイプライタリにリンクさせたマイクロソフト社の C/C++ バージョン 7.0 コンパイラでコンパイルすることができる。プログラムの実行は、撮像技法の TEXMAN シリーズのハードウェアから 1 k × 1 k フレームバッファ、ALU 及び ALU を制御する PC486 コンパチブルホストコンピュータで行なう。

特表平7-507472 (17)

```

/*-----*/
#include <stdio.h>
#include <math.h>
#include <stdlib.h>
#include <conio.h>
#include <iextc.h>
#include <graph.h>
#include <dos.h>
#define MEM_CHUNK 20
#define QUIT -1
#define GO -2
#define RADDX_10 10
#define RETURN 13
#define ESC 27
#define CURSOR_UP 72
#define CURSOR_DOWN 80
#define CURSOR_RIGHT 77
#define CURSOR_LEFT 75
#define CURSOR_JUMP_UP 141
#define CURSOR_JUMP_DOWN 145
#define CURSOR_JUMP_RIGHT 116
#define CURSOR_JUMP_LEFT 115
struct data_box{
    int x, y;
    int height, width;
};
typedef struct data_box data_box;
data_box *data_box_group[0];
int box_count = 0;
int depth = 10;
void init_box_overlays(void);
BYTE **ram_bordata(data_box **map_ptr, int search_depth, int frame_buffer),
data_box **define_boxmap(void);
data_box *draw_boxes(void);
BYTE **diff_box(data_box **map_ptr, BYTE **fb1, BYTE **fb2,
                int boxcount_x, off_t int y, off_t);
float sum_rects(data_box **map_ptr, int fb1, int fb2, int search_depth);
float *min_boxrects(data_box **map_ptr, float *float_ptr, int search_depth);
float *var_rects(data_box **map_ptr, float *float_ptr, int search_depth,
                int av_flag);
data_box *define_boxmap(void) /* returns a pointer to an array of boxes */
{
    int i = 0, maxbox = MEM_CHUNK; /* dynamically allocate mem in 20-box */
    int error_flag = 0, inchar; /* chunks. */
    data_box *group_of_boxes;
    data_box *box_pointer;
    int watch = GO;
    box_pointer = (data_box *)malloc(maxbox*sizeof(data_box));
    if(box_pointer == NULL)

```

```

int curs_x = 235, curs_y = 220;
data_box *draw_boxes(void)
{
    int dcurs_x,dcurs_y;
    int x_start, y_start, x_length, y_length;
    int text_char,k;
    char box_number[3];
    data_box *box_pointer;
    box_pointer = (data_box *)malloc(sizeof(data_box));
    if(box_pointer == NULL)
        printf("In TROUBLE AT 131\n");
    line(B2,0,curs_x-4,curs_y,curs_x+4,curs_y,1);
    line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,1);
    add_ljnode(DYNAMIC);
    k = 0;
    x_start = y_start = x_length = y_length = 0;
    while (1) {
        text_char=getch();
        if (text_char == RETURN) {
            ++k;
            dcurs_y=0;
            dcurs_x=0;
            if(k == 1) {
                x_start = curs_x;
                y_start = curs_y;
                line(B2,0,curs_x-4,curs_y,curs_x+4,curs_y,0);
                line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,0);
            }
            if (k == 2)
                break;
        }
        else if (text_char == 0){
            text_char = getch();
            switch(text_char) {
                case CURSOR_UP:
                    dcurs_y=-1;
                    dcurs_x=0;
                    break;
                case CURSOR_DOWN:
                    dcurs_y=1;
                    dcurs_x=0;
                    break;
                case CURSOR_LEFT:
                    dcurs_y=0;
                    dcurs_x=-1;
                    break;
                case CURSOR_RIGHT:
                    dcurs_y=0;
                    dcurs_x=1;
                    break;
                case CURSOR_JUMP_UP:
                    dcurs_y = -7;
                    dcurs_x = 0;
                    break;
                case CURSOR_JUMP_DOWN:
                    dcurs_y = 7;
                    dcurs_x = 0;
                    break;
                case CURSOR_JUMP_LEFT:
                    dcurs_y = 0;
                    dcurs_x = -7;
                    break;
                case CURSOR_JUMP_RIGHT:
                    dcurs_y = 0;
                    dcurs_x = 7;
                    break;
                default:
                    dcurs_x = 0;
                    dcurs_y = 0;
                    break;
            }
        }
        else
        text_char = -1;
        if((k == 0)&&(text_char != -1)) {
            line(B2,0,curs_x-4,curs_y,curs_x+4,curs_y,0);
            line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,0);
            curs_x=max(min(curs_x+dcurs_x,51),0);
            curs_y=max(min(curs_y+dcurs_y,479),0);
            line(B2,0,curs_x,curs_y,curs_x+4,curs_y,1);
            line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,1);
        }
        else if (k == 1) {
            line(B2,0,x_start,y_start,x_start + x_length,y_start,0);
            line(B2,0,x_start,y_start,x_start,y_start + y_length,0);
            line(B2,0,x_start,y_start + y_length,x_start +
                  x_length,y_start + y_length,0);
            line(B2,0,x_start + x_length,y_start,x_start +
                  x_length,y_start + y_length,0);
            curs_x=max(min(curs_x+dcurs_x,511),0);
            curs_y=max(min(curs_y+dcurs_y,479),0);
            x_length = curs_x - x_start;
            y_length = curs_y - y_start;
            line(B2,0,x_start,y_start,x_start + x_length,y_start,1);
            line(B2,0,x_start,y_start,x_start,y_start + y_length,1);
        }
    }
}

```

```

line(B2,0,x_start,y_start+y_length,x_start+
    x_length,y_start+y_length,1);
line(B2,0,x_start+x_length,y_start,x_start+
    x_length,y_start+y_length,1);

}

x_start = min(x_start,x_start+x_length);
y_start = min(y_start,y_start+y_length);
x_length = abs(x_length);
y_length = abs(y_length);
itow(box_count,box_number,RADIX_10);
if((x_length < 10) || (y_length < 10)) {
    if(x_length > y_length)
        text(B2,0,x_start+x_length/2-7,y_start-15,
            HORIZONTAL,1,1,box_number);
    else{
        if(box_count < 10)
            text(B2,0,x_start-11,y_start+y_length/2-2,
                HORIZONTAL,1,1,box_number);
        else
            text(B2,0,x_start-18,y_start+y_length/2-2,
                HORIZONTAL,1,1,box_number);
    }
}
else
    text(B2,0,x_start+x_length/2-5,y_start+y_length/2-2,
        HORIZONTAL,1,1,box_number);
box_pointer->x = x_start; /* x coordinate */
box_pointer->y = y_start; /* y coordinate */
box_pointer->height = y_length; /* vertical length */
box_pointer->width = x_length; /* horiz length */
cur_x+=20; /* move cross-hairs to nearby location */
cur_y+=20;
return box_pointer;
}

void init_box_overlay(void)
{
    /* Clear B2, set path to B1, and overlay */
    fb_setmask(FRAMEB,0x0FFF); /* B2 on B1 */
    fb_clr(B2,0);
    select_path(B1);
    adi_hblanksel(RED);
    adi_cleariu(250);
    adi_hgroupsel(GREEN);
    adi_cleariu(0);
    adi_hgroupsel(BLUE);
    adi_cleariu(0);
}
void init_itex_stuff(void)

if(box == NULL)
    printf("\nScrewed at line 341\n");
for(i=0;i<x_length;i++){
    box[i] = (BYTE *)malloc(sizeof(BYTE)*y_length);
    if(box[i] == NULL)
        printf("\nScrewed at 362\n");
    for(j=0;j<y_length;j++)
        box[i][j] = (BYTE)(abs((int)(fb_ptr[i]+count)[j]) -
            (int)(fb_ptr2[i+off+count2][j]+y_off)));
}
return(box);
}

BYTE ***diff_map(data_box **map_ptr,int fb1,int fb2,int search_depth){
    BYTE ***diff_rects,data_box,**fb1_ptr,**fb2_ptr;
    int count=0;
    int i,j,k;
    unsigned int size, total_size = box_count*(2*search_depth + 1)*
        (2*search_depth + 1);
    size = 2*search_depth + 1;
    diff_rects = (BYTE ***)malloc(sizeof(BYTE **)*total_size);
    if(diff_rects == NULL)
        printf("\nScrewed at 379\n");
    fb1_ptr = ram_boxdata(map_ptr,0,fb1);
    fb2_ptr = ram_boxdata(map_ptr,search_depth,fb2);
    for(i=0;i<box_count;i++)
        for(j=0;j<size;j++)
            for(k=0;k<size;k++){
                diff_rects[count] = diff_box(map_ptr,fb1_ptr,fb2_ptr,i,j,k);
                count++;
            }
    return(diff_rects);
}

float *sum_rects(data_box **map_ptr,BYTE ***diff_rects,int search_depth,
    int av_flag){
unsigned int i,j,k,l,m,count=0;
float size = (2*search_depth + 1);
float total_size = (2*search_depth + 1)*(2*search_depth + 1)*box_count;
float *sum_ptr;
sum_ptr = (float *)calloc((unsigned int)total_size,sizeof(float));
if(sum_ptr == NULL)
    printf("\nSCREWUP AT 537\n");
for(i=0;i<box_count;i++)
    for(j=0;j<size;j++)
        for(k=0;k<size;k++){
            for(l=0;l < (*map_ptr[i]).width; l++)
                for(m=0;m < (*map_ptr[i]).height; m++)
                    sum_ptr[count] += diff_rects(count)[l][m];
            if(av_flag == ON)
                sum_ptr[count] = sum_ptr[count]/
}
}

{
    err_level(2);
    load_cfg("");
    initsys();
}

BYTE **ram_boxdata(data_box **map_ptr,int search_depth,int frame_buffer){
int i,j,k,x_start,x_end,x_length,y_start,y_length;
BYTE **image_rects;
unsigned int count=0;
unsigned int total_length;
select_path(frame_buffer);
for(i=0;i<box_count;i++)
    total_length += (*map_ptr[i]).width + 2*search_depth;
image_rects = (BYTE **)malloc(total_length*sizeof(BYTE *));
if(image_rects == NULL)
    printf("\n4094\n");
for(j=0;j<box_count;j++)
    image_rects[count] = (BYTE *)malloc(sizeof(BYTE)*y_length);
    if(image_rects[count] == NULL)
        printf("\nSCREWUP 4206\n");
    fb_rline(B1,j,y_start,y_length,image_rects[count]);
    count++;
}

return(image_rects);
}

BYTE **diff_box(data_box **map_ptr,BYTE **fb_ptr,BYTE **fb_ptr2,
    int box_number,int x_off,int y_off){
unsigned int x_length,y_length;
static unsigned int count=0,count2=0;
int i,j;
static int old_number;
BYTE *box;
x_length = (*map_ptr[box_number]).width;
y_length = (*map_ptr[box_number]).height;
if(box_number == 0)
    old_number = 0;
if(old_number != box_number){
    count1 += x_length;
    count2 += x_length + 2*depth;
    old_number = box_number;
}
box = (BYTE *)malloc(sizeof(BYTE)*x_length);

{
    ((*map_ptr[i]).width * (*map_ptr[i]).height);
    count++;
}
return(sum_ptr);
}

float *var_rects(data_box **map_ptr,BYTE ***diff_rects,int search_depth,
    int av_flag){
unsigned int i,j,k,l,m,count=0;
float size = (2*search_depth + 1);
float total_size = (2*search_depth + 1)*(2*search_depth + 1)*box_count;
float *var_ptr,*av_ptr;
av_ptr = sum_rects(map_ptr,diff_rects,search_depth,av_flag);
var_ptr = (float *)calloc((unsigned int)total_size,sizeof(float));
if(var_ptr == NULL)
    printf("\nIn trouble at 477\n");
for(i=0;i<box_count;i++)
    for(j=0;j<size;j++)
        for(k=0;k<size;k++){
            for(l=0;l < (*map_ptr[i]).width; l++)
                for(m=0;m < (*map_ptr[i]).height; m++)
                    var_ptr[count] += ((float)(diff_rects(count)[l][m]) -
                        av_ptr[count])*((float)(diff_rects(count)[l][m]) -
                        av_ptr[count]);
            count++;
        }
free(av_ptr);
return(var_ptr);
}

int *min_boxset(data_box **map_ptr,float *float_ptr,int search_depth){
unsigned int i,j,box_jump;
float metric,min_metric = FLT_MAX,position=0;
int shift[3];
div_1_div_result;
box_jump = (2*search_depth + 1)*(2*search_depth + 1);
for(i=0;i<box_jump;i++)
    metric = 0;
    for(j=0;j<box_count;j++)
        metric += float_ptr[j]*box_jump + i;
        if(metric < min_metric){
            min_metric = metric;
            position = i;
        }
}

div_result = div((int)position,(int)(2*search_depth + 1));
shift[0] = (int)position;
shift[1] = depth - div_result.quot;
shift[2] = depth - div_result.rem;
return(shift);
}

```

```

int main(void)
{
    BYTE ***mock_pointer;
    char image[12];
    data_box **map_pointer;
    int *stats_ptr,i;
    float *sum_ptr3;
    int *trans3;
    init_hex_stuff();
    fb_init();
    _clearscreen(_GCLEARSCREEN);
    _settextposition(10,10);
    select_path(B1);
    _outtext("BASE Image : ");
    scanf("%s",image);
    im_read(B1,0,512,480,image);
    _settextposition(15,10);
    select_path(ALOW);
    _outtext("Image to translate : ");
    scanf("%s",image);
    im_read(ALOW,0,512,480,image);
    _settextposition(20,20);
    _outtext("Search depth : ");
    scanf("%d",&depth);
    select_path(B3);
    map_pointer = define_boxmap();
    sum_ptr3 = var_rects(map_pointer,mock_pointer,depth,ON);
    trans3 = min_boxset(map_pointer,sum_ptr3,depth);
    printf("\nVARIANCE : pos = %d, x_trans = %d, y_trans = %d\n",
        trans3[0],trans3[1],trans3[2]);
    free(mock_pointer);
    free(sum_ptr3);
    free(trans3);
    return 0;
}

```



FIGURE 2A2
FIGURE 2B2



FIGURE 2C2
FIGURE 2B4
FIGURE 2C4



FIGURE 2A2



FIGURE 2C2

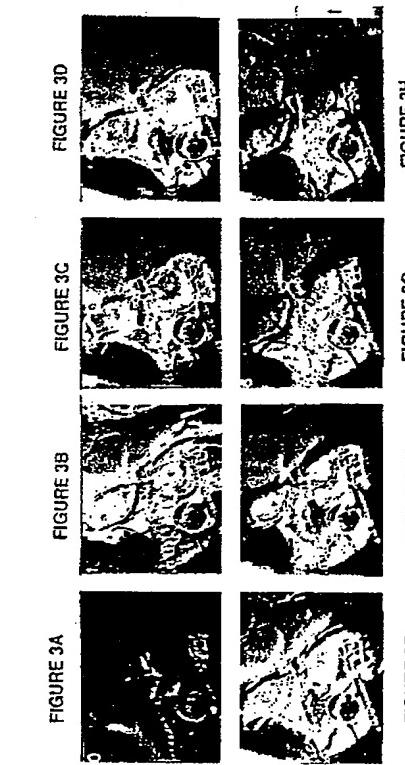


FIGURE 3A
FIGURE 3B
FIGURE 3C
FIGURE 3D
FIGURE 3E
FIGURE 3F
FIGURE 3G
FIGURE 3H

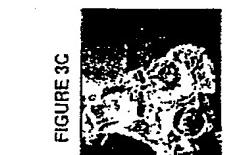
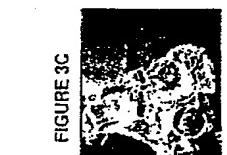


FIGURE 1A
FIGURE 1B
FIGURE 1C
FIGURE 1D

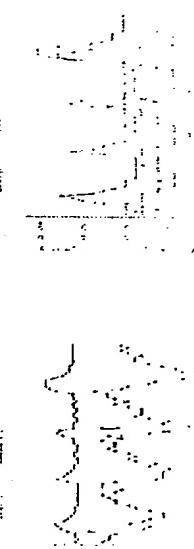
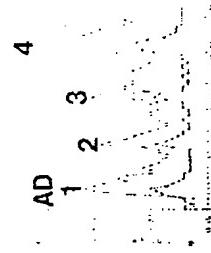
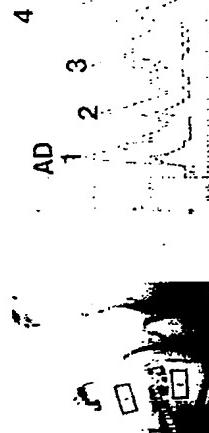


FIGURE 10
FIGURE 10
FIGURE 10



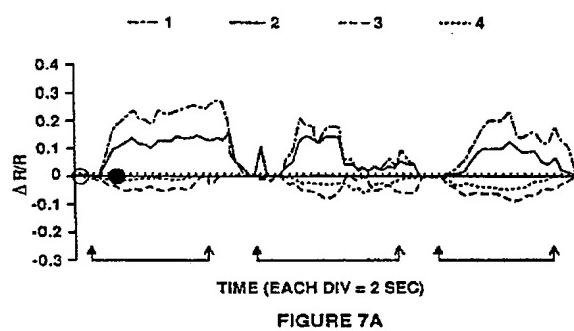
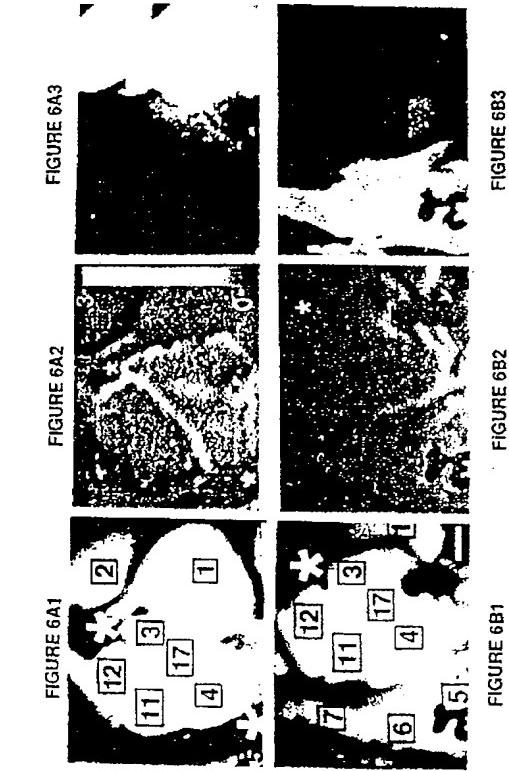
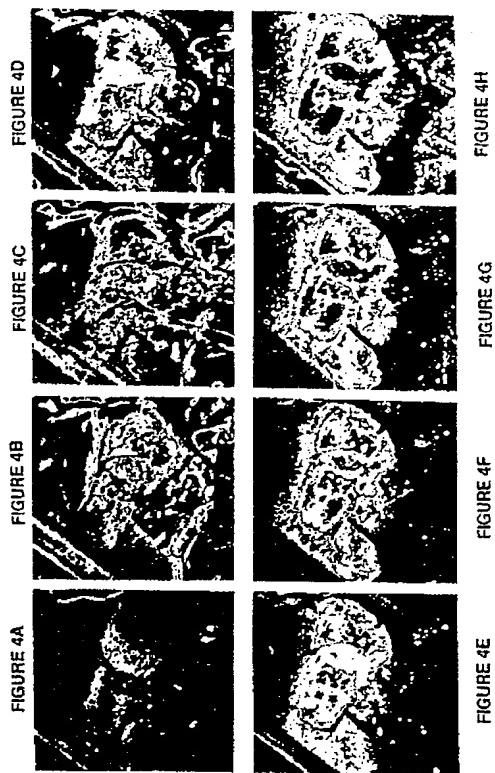


FIGURE 7A

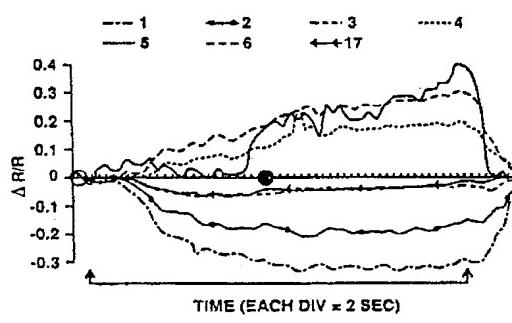


FIGURE 7B

FIGURE 8A

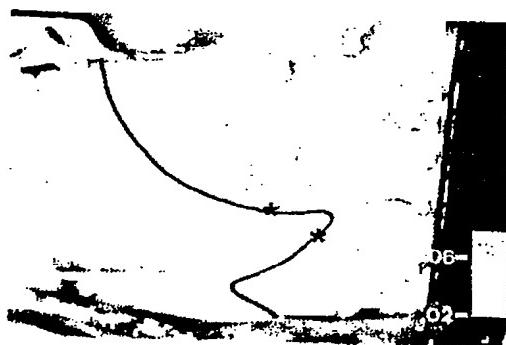
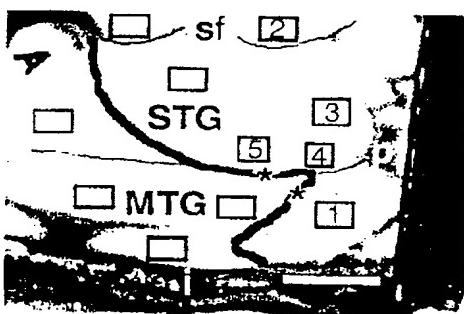


FIGURE 8B

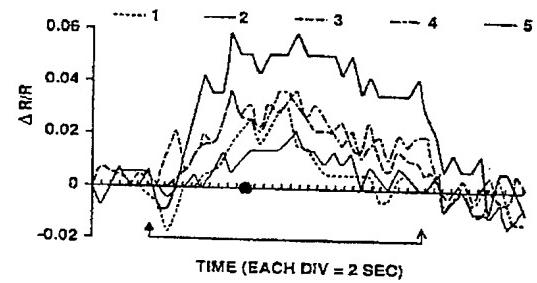


FIGURE 9A

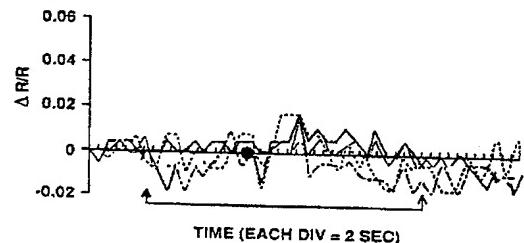


FIGURE 9B

FIGURE 10A

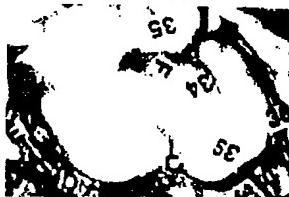


FIGURE 10D

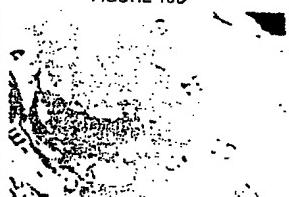


FIGURE 10B



FIGURE 10E



FIGURE 10C



FIGURE 10F



FIGURE 11A



FIGURE 11D



FIGURE 11B



FIGURE 11E

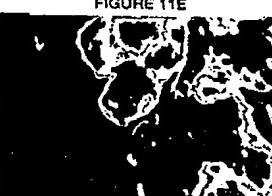


FIGURE 11C

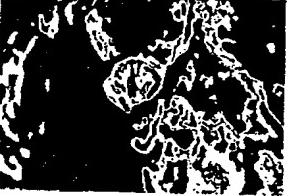


FIGURE 12A

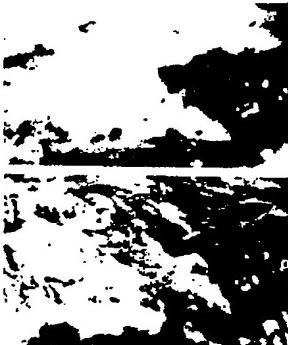


FIGURE 12B

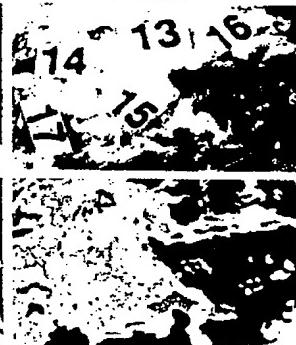


FIGURE 12C



FIGURE 12D



FIGURE 13A



FIGURE 13B



FIGURE 13C



FIGURE 13D

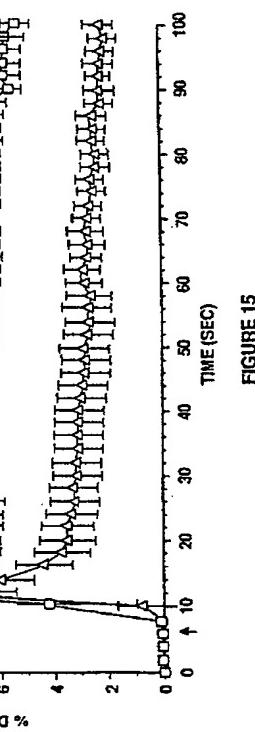


FIGURE 14A



FIGURE 14B



FIGURE 14C



FIGURE 14D

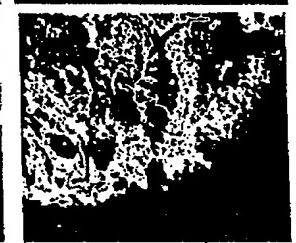




FIGURE 16A



FIGURE 16B



FIGURE 16C



FIGURE 16D



FIGURE 16E



FIGURE 16F

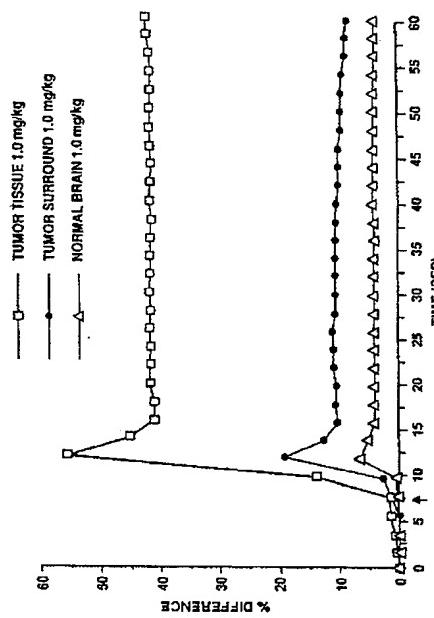


FIGURE 17

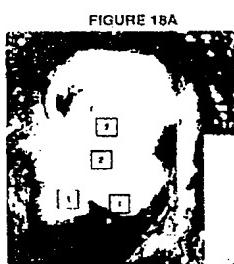


FIGURE 18A

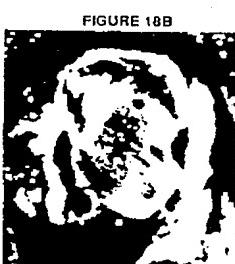


FIGURE 18B



FIGURE 18C



FIGURE 18D

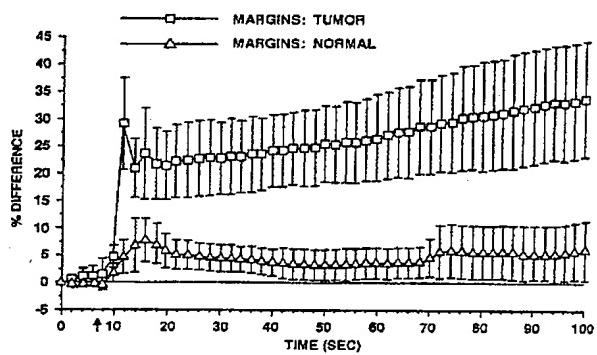


FIGURE 19

国際調査報告		International application No. PCT/KU93/05773
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(6): A61B 4/00 US CL.: 128/453, 1, 453, 404, 465; 258/10, 11; 364/412, 13 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FURTHER SEARCHED Maximum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 128/452, 1, 453, 444, 465; 358/99, 11; 359/10, 11; 364/412, 13; 762/46		
Documentation searched other than maximum documentation on the issue that these documents are disclosed in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Claim(s) document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Relevant to claim No.
X	U.S.A., 5,027,817 (JOHN), 02 JULY 1991, SEE ENTIRE DOCUMENT.	1,3,7,8 2,12,13
X,P	U.S.A., 5,198,977 (SALBI), 30 MARCH 1993, SEE ENTIRE DOCUMENT.	4-10,14-15
Y	U.S.A., 4,515,165 (CARROLL), 07 MAY 1985.	12,13
A,P	U.S.A., 5,213,105 (GRATTAN ET AL), 25 MAY 1993.	1-15
A	U.S.A., 5,014,709 (BJELKHAGEN ET AL), 14 MAY 1991.	1-15
A	U.S.A., 4,999,614 (UEDA ET ALI), 12 MARCH 1991.	1-15
A	U.S.A., 4,768,513 (SUZUKI), 06 SEPTEMBER 1988.	1-15
<p><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Sec. C. <input type="checkbox"/> See patent family names.</p> <p>* Spoken language of cited documents ** Not defined for general case of the art which is not considered to be relevant ** Not defined for general case of the art which is not considered to be relevant ** Not defined published or after the examination date case ** Document which may prove useful as prior art(s) or which is cited or intended for consideration of matter related to other documents referred to in this report ** Document relating to an area of interest, i.e., withdrawn or other documents ** Document published prior to the examination date but relevant for priority date claimed ** Document number of the cited patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report 20 OCT 1993	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20540 Fax/phone No. NOT APPLICABLE	Authorized officer <i>R. KRUSTA, PEAPPLE</i> Telephone No. (703) 308-0858	

国際調査報告		International application No. PCT/KU93/05773
C (Continuation): DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Claim(s) document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Relevant to claim No.
A	U.S.A., 4,767,717 (BAISDEN), 30 AUGUST 1988.	1-15
A	U.S.A., 4,556,057 (HIRUMA ET AL), 03 DECEMBER 1983.	1-15

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet)(July 1992)*



US005438989A

United States Patent [19]**Hochman et al.****[11] Patent Number:** **5,438,989****[45] Date of Patent:** **Aug. 8, 1995**

[54] **SOLID TUMOR, CORTICAL FUNCTION, AND NERVE TISSUE IMAGING METHODS AND DEVICE**

[76] Inventors: **Darryl Hochman**, 22933 Edmonds Way, Edmonds, Wash. 98020; **Michael M. Haglund**, 1647 N. 197th Pl., Seattle, Wash. 98133

[21] Appl. No.: **894,270**

[22] Filed: **Jun. 8, 1992**

Related U.S. Application Data

[63] Continuation-in-part of Ser. No. 565,454, Aug. 10, 1990, Pat. No. 5,215,095.

[51] Int. Cl.⁶ **A61B 5/00**; G01N 21/00

[52] U.S. Cl. **128/653.1**; **128/654**; **128/664**; **128/665**; **348/68**; **348/77**; **348/164**; **364/413.13**

[58] **Field of Search** **128/633**, **653.1**, **664**, **128/665**, **654**; **382/6**; **358/98**, **110**, **111**, **113**; **364/413.13**; **348/65**, **162**, **164**, **68**, **69**, **77**

[56] **References Cited**

U.S. PATENT DOCUMENTS

- 4,515,165 5/1985 Carroll 128/664
4,556,057 12/1985 Hiruma et al. 128/634
4,767,717 8/1988 Baisden 128/653.1
4,768,513 9/1988 Suzuki 128/665
4,852,579 8/1989 Gilstad 128/665
4,930,516 6/1990 Alfano et al.
4,999,614 3/1991 Ueda et al. 358/113
5,014,709 5/1991 Bjelkhagen et al. 128/665
5,027,817 7/1991 John 128/654
5,079,698 1/1992 Grenier et al. 364/413.13
5,119,815 6/1992 Chance 128/665
5,198,977 3/1993 Salb .
5,213,105 5/1993 Gratton et al. 128/665
5,215,095 6/1993 Macvicar et al. 128/665

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

1026769 7/1983 U.S.S.R. 128/653.1

OTHER PUBLICATIONS

"Microwave Absorption by Normal and Tumor Cells", *Science*, vol. 174, pp. 72-74.

Herbin et al.; "Automated Registration of Dissimilar

Images: Application to Medical Imagery", pp. 77-88, 1989.

D'Orsi et al., in L. W. Bassett and R. H. Gold eds., *Breast Cancer Detection, Mammography and Other Methods in Breast Imaging*, 2nd ed., Grune & Stratton, Inc., 1987, pp. 169-177.

Grinvald et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* :11559, 1991, "High resolution optical imaging of functional grain architecture in the awake monkey".

Ts'o et al., *Science* 249:417, 1990, "Functional Organization of Primate Visual Cortex Revealed by High Resolution Optical Imaging".

Frostig et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6082, 1990; "Cortical functional architecture and local coupling between neurol activity and the micro circulation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals".

Primary Examiner—Krista M. Pfaffle

ABSTRACT

The present invention provides a method for imaging margins, grade and dimensions of solid tumor tissue located in an area of interest, comprising illuminating the area of interest with high intensity, emr (electromagnetic radiation) containing the wavelength of emr absorbed by a dye, obtaining a video signal of the area of interest as an averaged control image and processing the averaged control image into the averaged control frame, administering the dye by bolus injection into a vein circulating to the area of interest, obtaining a series of video images of the area of interest over time as subsequent images and processing each subsequent image as a subsequent frame, comparing each subsequent frame with the processed averaged control frame to obtain a series of difference images, and comparing each difference image for initial evidence of changed absorption within the area of interest which is the outline of solid tumor tissue, whereby tumor tissue is characterized by faster absorption of emr as a result of increased vascularity of solid tumor tissue and inability to clear the dye as fast as normal tissue.

9 Claims, 9 Drawing Sheets

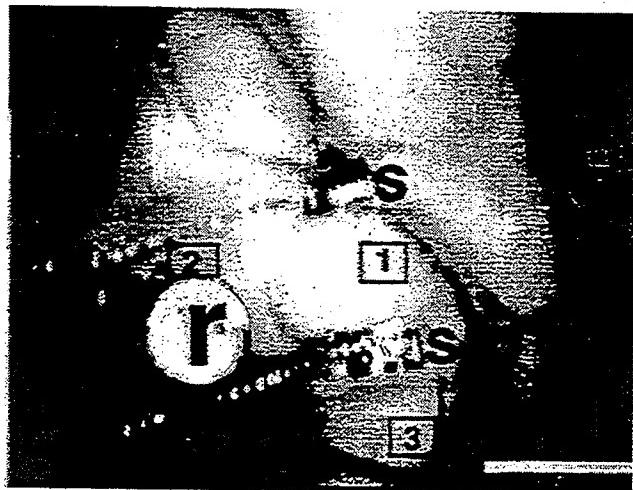


FIGURE 1A1

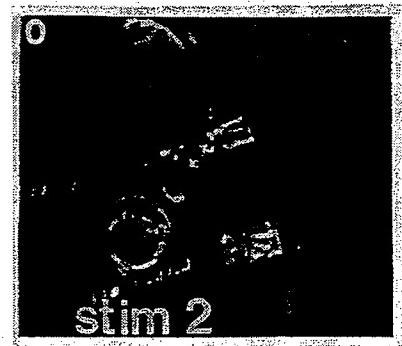


FIGURE 1A2



FIGURE 1A3

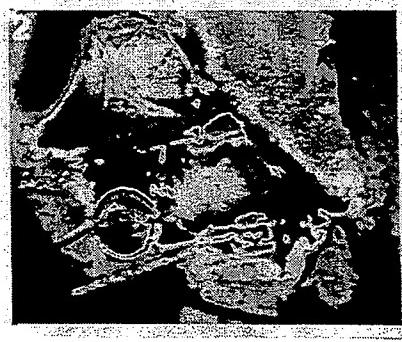


FIGURE 1A4

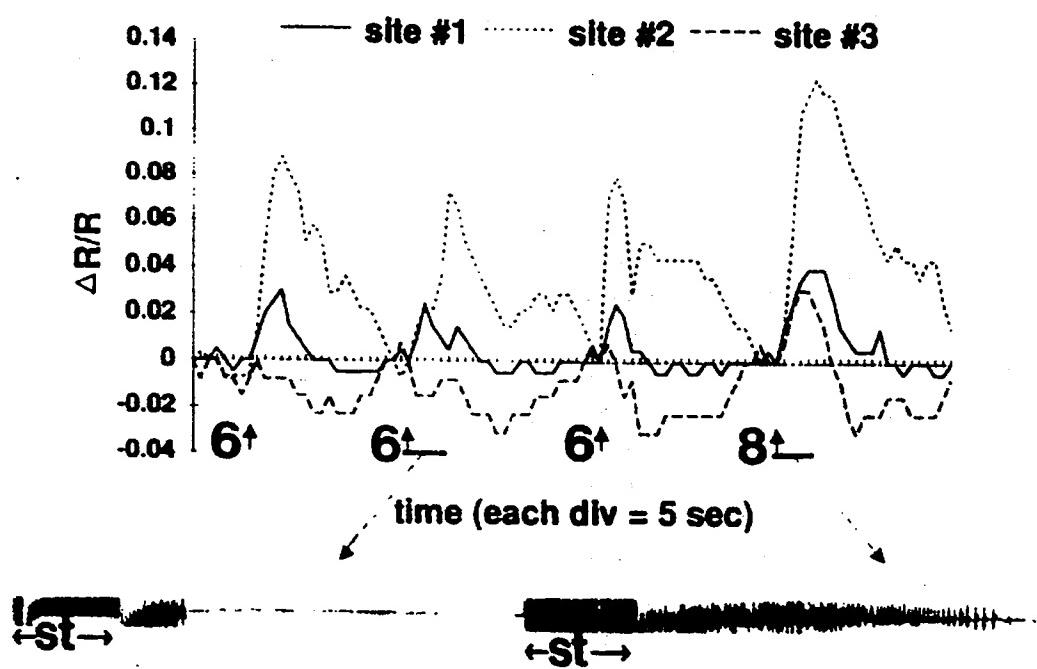


FIGURE 1B

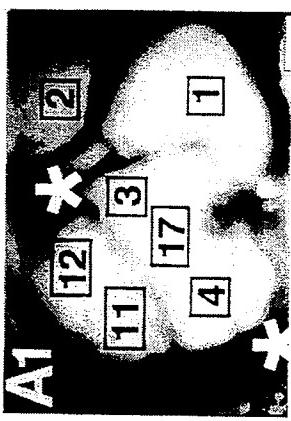


FIGURE 2A1



FIGURE 2A2

FIGURE 2A3

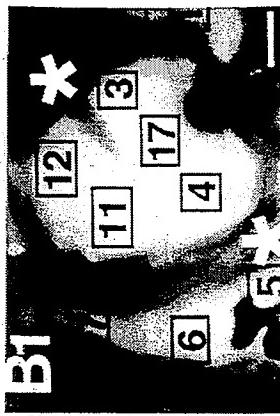


FIGURE 2B1

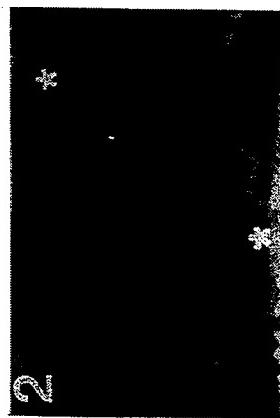


FIGURE 2B2

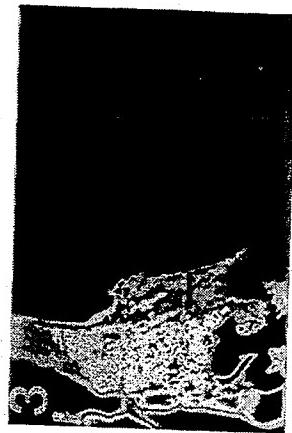


FIGURE 2B3

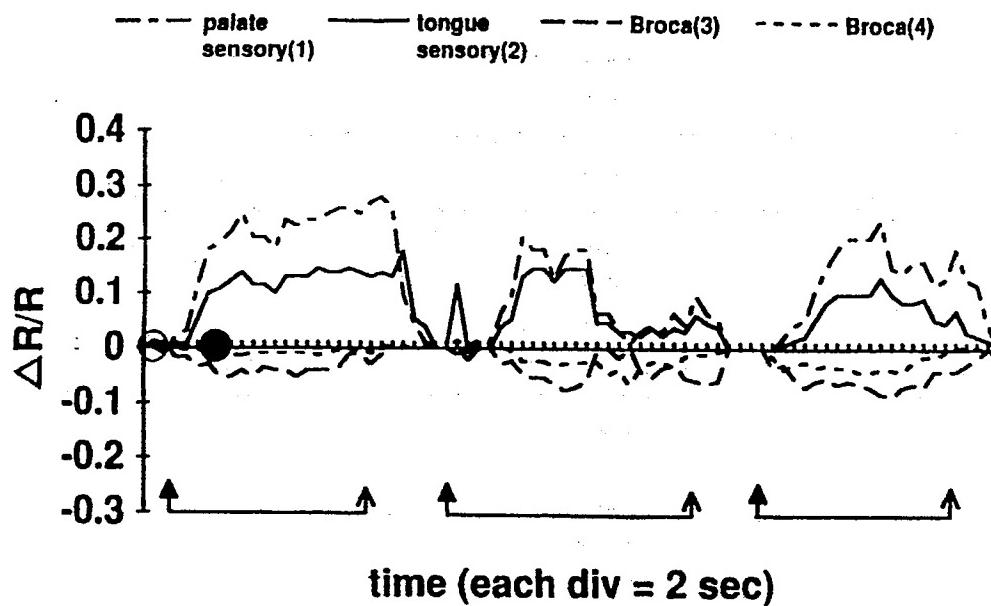


FIGURE 2C

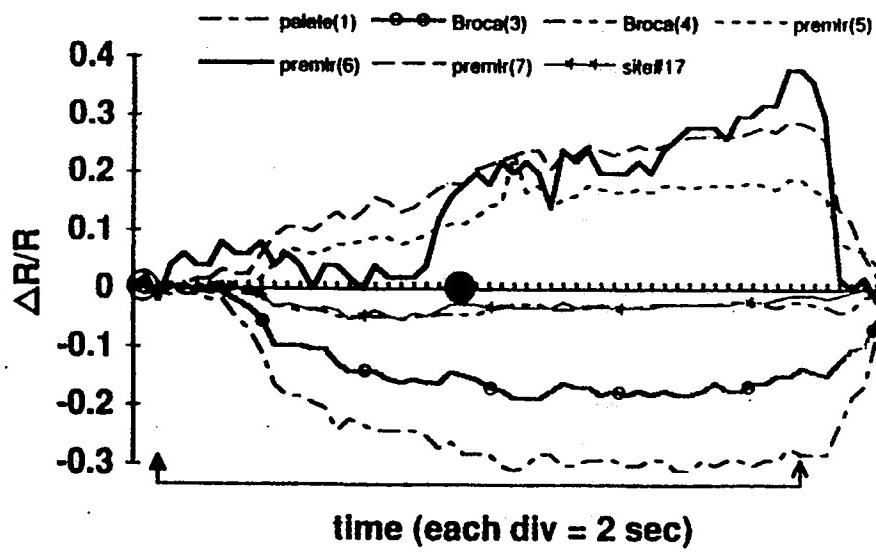


FIGURE 2D

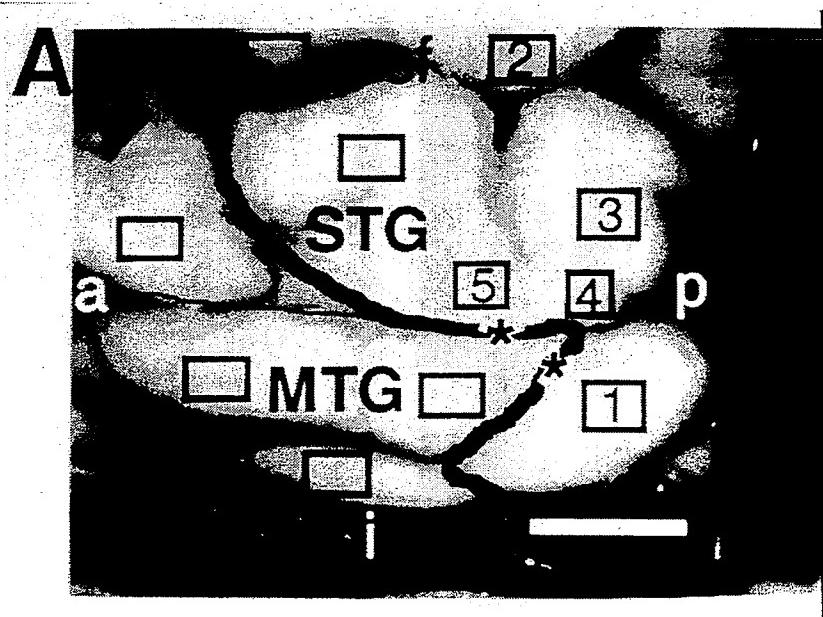


FIGURE 3A

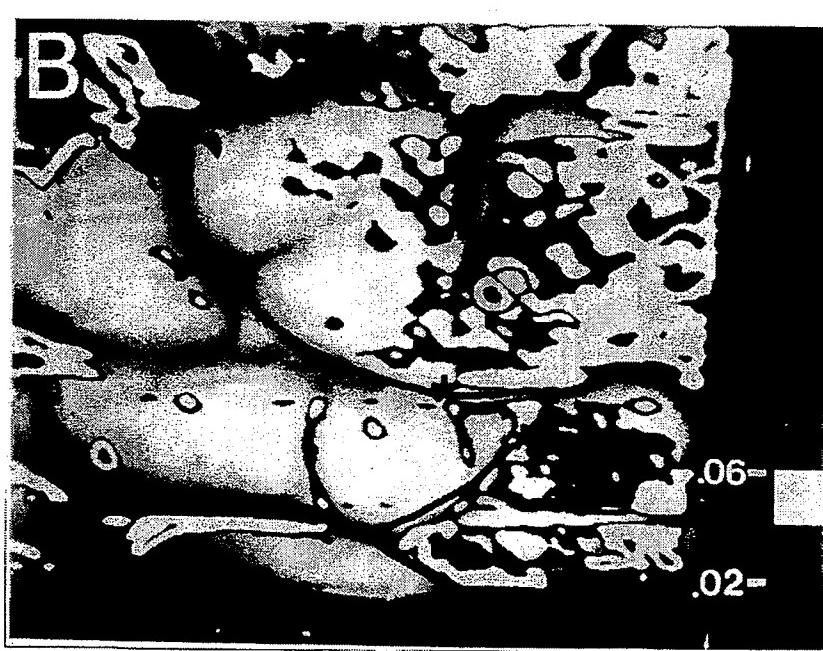


FIGURE 3B

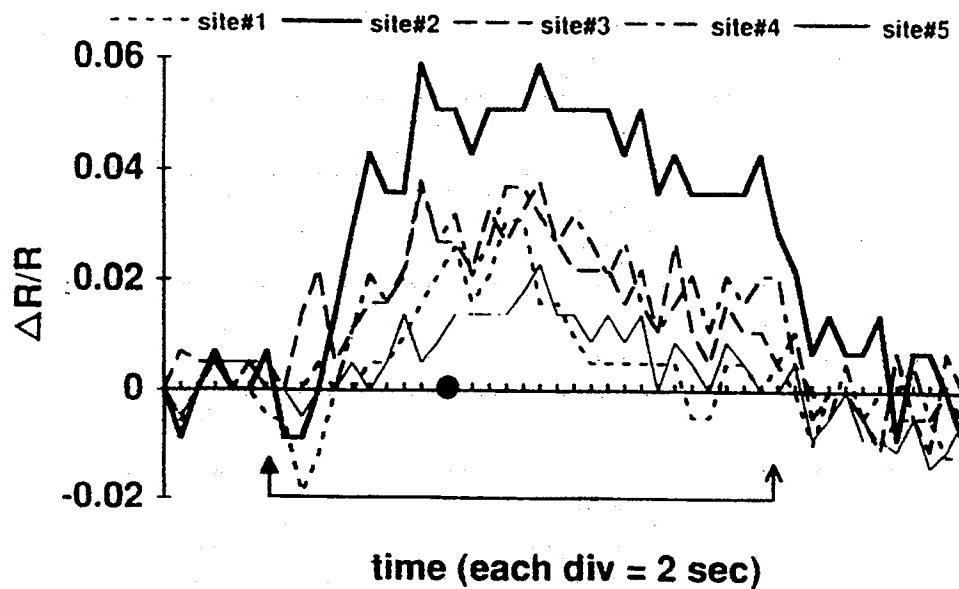


FIGURE 3C

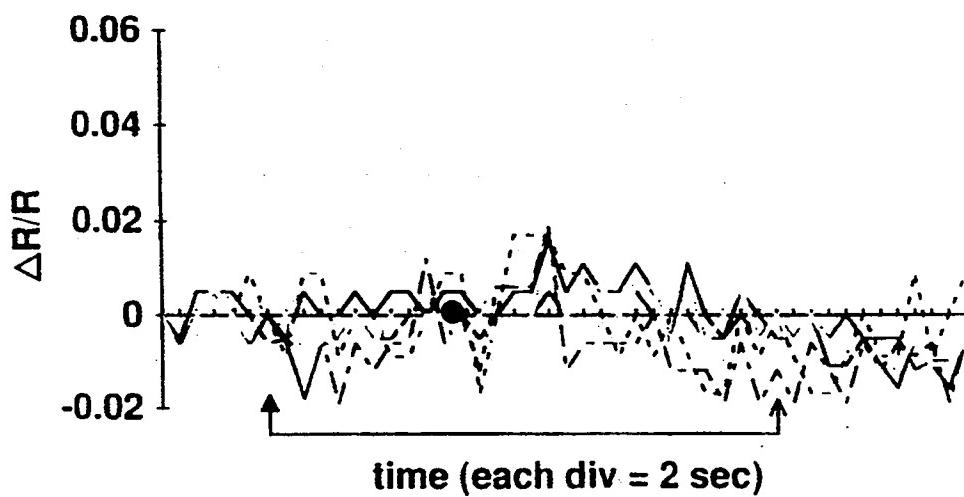


FIGURE 3D

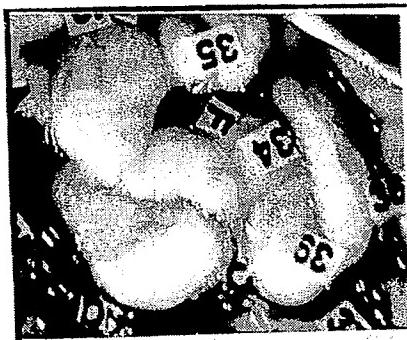


FIGURE 4A

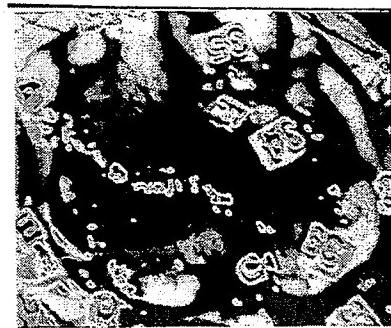


FIGURE 4D



FIGURE 4B

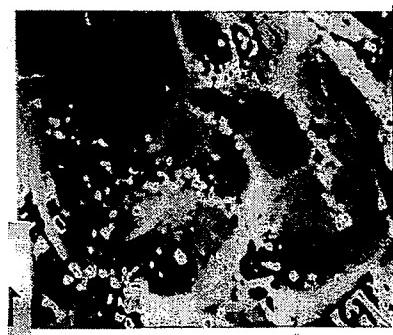


FIGURE 4E



FIGURE 4C



FIGURE 4F



FIGURE 5A



FIGURE 5D



FIGURE 5B

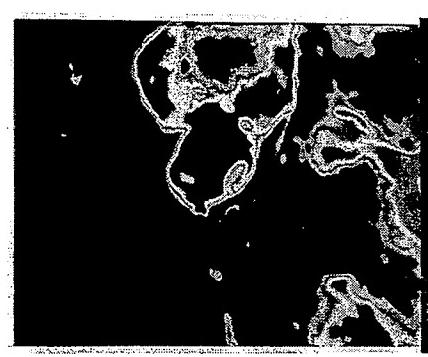


FIGURE 5E

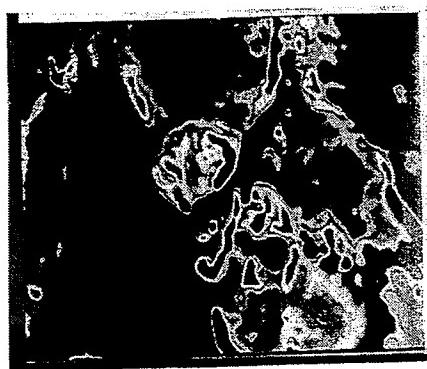


FIGURE 5C



FIGURE 6A

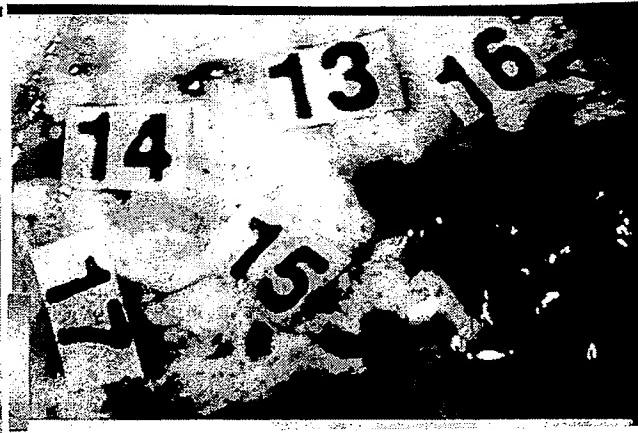


FIGURE 6B

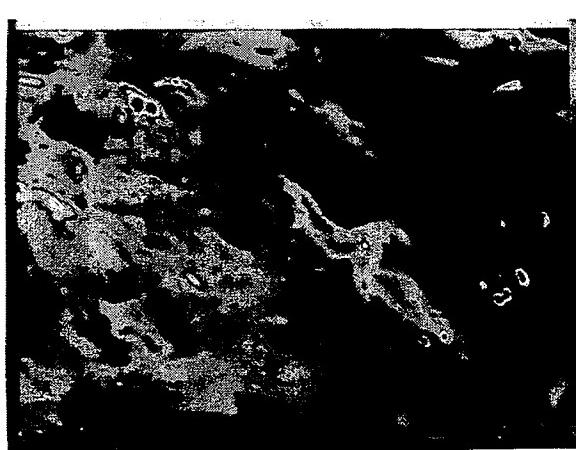


FIGURE 6C

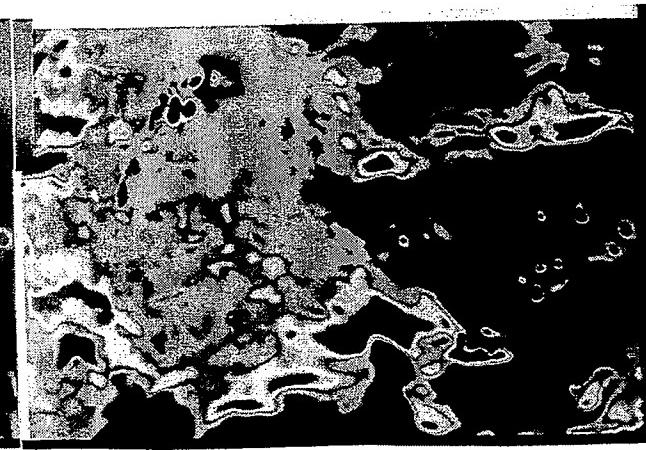


FIGURE 6D

**SOLID TUMOR, CORTICAL FUNCTION, AND
NERVE TISSUE IMAGING METHODS AND
DEVICE**

**CROSS-REFERENCE TO RELATED
APPLICATION**

This application is a continuation-in-part of U.S. patent application No. 07/565,454, filed Aug. 10, 1990, now U.S. Pat. No. 5,215,095.

TECHNICAL FIELD OF THE INVENTION

The present invention provides a method for real-time detection of solid tumor tissue, plus an ability to grade and characterize tumor tissue. The present invention further provides a method for real-time mapping of functional and dysfunctional cerebral cortex and nervous tissue. The present invention further provides a device for real-time detection and optical imaging for the inventive methods.

BACKGROUND OF THE INVENTION

A primary goal of neurological surgery is the complete removal of abnormal or pathological tissue while sparing normal areas. Hence, the neurosurgeon attempts to identify boundaries of pathological or dysfunctional tissue and to map adjacent areas of the cortex committed to important functions, such as language, motor and sensory areas so that pathological/dysfunctional tissue is removed without removing functional areas.

Incidence rates for primary intracranial brain tumors are in the range of 50-150 cases per million population or about 18,000 cases per year (Berens et al. 1990). Approximately one half of brain tumors are malignant. The incidence of malignant brain tumors in adults is predominantly in the age range of 40-55 years while the incidence of more benign tumors peaks near 35 years of age. A primary means for treatment of such tumors is surgical removal. Many studies have shown that when more of the total amount of tumor tissue is removed, the better the clinical outcome. For gross total resections of tumors, the 5-year survival rate is doubled when compared to subtotal resection. Both duration of survival and independent status of the patient are prolonged when the extent of resection is maximized in malignant gliomas.

Of the 500,000 patients projected to die of systemic cancer per year in the United States, approximately 25%, or over 125,000 can be expected to have intracranial metastasis. The primary focus for surgery in this group is in those patients with single lesions who do not have widespread or progressive cancer. This group represents about 20-25% of patients with metastases (30,000), however, the actual number of patients that are good candidates for surgery is slightly smaller. Of those patients undergoing surgery, one half will have local recurrence of their tumor at the site of operation, while the other half will develop a tumor elsewhere. The fact that about 50% of the surgeries fail at the site of operation means that an improved ability to remove as much tumor as possible by detecting and localizing tumor margins during tumor removal could potentially decrease the incidence of local recurrence.

Thus, for both primary and metasomatic tumors, the more tumor tissue removed, the better the outcome and the longer the survival. Further, by maximizing the

extent of resection, the length of functional, good quality survival is also increased.

Most current tumor imaging techniques are performed before surgery to provide information about tumor location. Presurgery imaging methods include magnetic resonance imaging (MRI) and computerized tomography (CT). In the operating room, only intraoperative ultrasound and stereotactic systems can provide information about the location of tumors. Ultrasound shows location of the tumor from the surface but does not provide information to the surgeon once surgery begins to prevent destruction of important functional tissue while permitting maximal removal of tumor tissue. Stereotactic systems coupled with advanced imaging techniques have (at select few hospitals) been able to localize tumor margins based upon the preoperative CT or MRI scans. However studies (Kelly, 1990) have shown that the actual tumor extends 2-3 cm beyond where the image enhanced putative tumor is located on preoperative images. Therefore, the only current reliable method to determine the location of tumors is by sending biopsies during surgery (i.e., multiple histological margin sampling) and waiting for results of microscopic examination of frozen sections. Not only is it not advisable to continually take breaks during surgery, but such biopsies are, at best, an estimation technique and are subject to sampling errors and incorrect readings as compared to permanent tissue sections that are available about one week later. Thus, a surgeon often relies upon an estimation technique as a guide when patient outcome is dependent upon aggressive removal of tumor tissue. Surgeons have difficult decisions between aggressively removing tissue and destroying surrounding functional tissue and may not know the real outcome of their procedure until one week later and this may require an additional surgical procedure.

Multiple histological margin sampling suffers several drawbacks. First this is a time-consuming procedure as it can add about 30 to 90 minutes (depending upon the number of samples taken) to a surgical procedure when the patient is under anesthesia. Second, this procedure is prone to errors as a pathologist must prepare and evaluate samples in short order. Third, it is certainly the case that margin sampling does not truly evaluate all regions surrounding a primary tumor as some areas of residual tumor can be missed due to sampling error. Fourth, increased time for margin sampling is expensive as operating room time costs are high and this leads to increased overall medical costs. Moreover, increased operating room time for the patient increases the probability of infection.

Other techniques developed to improve visual imaging of solid tumor masses during surgery include determining the shape of visible luminescence spectra from normal and cancerous tissue. According to U.S. Pat. No. 4,930,516, in cancerous tissue there is a shift to blue with different luminescent intensity peaks as compared to normal tissue. This method involves exciting tissue with a beam of ultraviolet (UV) light and comparing visible native luminescence emitted from the tissue with a historical control from the same tissue type. Such a procedure is fraught with difficulties because a real time, spatial map of the tumor location is not provided for the use of a surgeon. Moreover, the use of UV light for an excitation wavelength can cause photodynamic changes to normal cells, is dangerous for use in an operating room, and penetrates only superficially into tissue and requires quartz optical components instead of glass.

Therefore, there is a need in the art for a more comprehensive and faster technique and a device for assisting such a technique to localize for solid tumor locations and map precise tumor margins in a real-time mode during surgery. Such a device and method should be further useful for inexpensive evaluation of any solid tumor (e.g., breast mammography) by a noninvasive procedure and capable of grading and characterizing the tumors.

A type of neurosurgical procedure which also exemplifies these principles is the surgical treatment of intractable epilepsy (that is, epilepsy which cannot be controlled with medications). Presently, electroencephalography (EEG) and electrocorticography (ECOG) techniques are used prior to and during surgery for the purposes of identifying areas of abnormal brain activity, such as epileptic foci. These measurements provide a direct measurement of the brain's electrical activity.

Intraoperative EEG techniques involve placing an array of electrodes upon the surface of the cortex. This is done in an attempt to localize abnormal cortical activity of epileptic seizure discharge. Although EEG techniques are of widespread use, hazards and limitations are associated with these techniques. The size of the electrode surface and the distance between electrodes in an EEG array are large with respect to the size of brain cells (e.g., neurons) with epileptic foci. Thus, current techniques provide poor spatial resolution (approximately 1.0 cm) of the areas of abnormal cortical activity. Further, EEG techniques do not provide a map of normal cortical function in response to external stimuli (such as being able to identify a cortical area dedicated to speech, motor or sensory functions by recording electrical activity while the patient speaks). A modification of this technique, called cortical evoked potentials, can provide some functional cortical mapping. However, the cortical evoked potential technique suffers from the same spatial resolution problems as the EEG technique.

The most common method of intraoperative localization of cortical function in epilepsy and tumor surgery is direct electrical stimulation of the cortical surface with a stimulating electrode. Using this technique, the surgeon attempts to evoke either an observed motor response from specific parts of the body, or in the case of an awake patient, to generate specific sensations or cause an interruption in the patient's speech output. Again, this technique suffers from the same problems as the EEG technique because it offers only crude spatial localization of function.

Possible consequences of the inaccuracies of all these techniques, when employed for identifying the portion of the cortex responsible for epileptic seizures in a patient, are either a greater than necessary amount of cortical tissue is removed possibly leaving the patient with a deficit in function, or that not enough tissue is removed leaving the patient uncured by the surgery. Despite these inadequacies, such techniques have been deemed acceptable treatment for intractable epilepsy. The same principles apply to tumor surgeries, however, intraoperative functional mapping is not performed routinely.

In the past few years, researchers have been using imaging techniques in animal models to identify functional areas of cortex with high spatial resolution. One type of such technique uses a voltage-sensitive dye. A voltage-sensitive dye is one whose optical properties change during changes in electrical activity of neuronal

cells. The spatial resolution achieved by these techniques is near the single cell level. Blasdel and Salama (*Nature* 321:579, 1986) used a voltage-sensitive dye (merocyanine oxazolone) to map cortical function in a monkey model. The use of these kinds of dyes would pose too great a risk for use in humans in view of their toxicity. Further, such dyes are bleached by light and must be infused frequently.

Recently, measurement of intrinsic signals have been shown to provide similar spatial resolution as voltage-sensitive dye imaging. Intrinsic signals are light reflecting changes in cortical tissue partially caused by changes in neuronal activity. Unlike other techniques used for imaging neuronal activity, imaging intrinsic signals does not require using dyes (which are often too toxic for clinical use) or radioactive labels. For example, Grinvald et al. (*Nature* 324:361, 1986) measured intrinsic changes in optical properties of cortical tissue by reflection measurements of tissue in response to electrical or metabolic activity. Light of wavelength 500 to 700 nm may also be reflected differently between active and quiescent tissue due to increased blood flow into regions of higher neuronal activity. Another aspect which may contribute to intrinsic signals is a change in the ratio of oxyhemoglobin to deoxyhemoglobin.

Ts'o et al. (*Science* 249:417, 1990) used a charge-coupled device (CCD) camera to detect intrinsic signals in a monkey model. However, this technique would not be practical in a clinical environment because imaging was achieved by implanting a stainless steel optical chamber in the skull and in order to achieve sufficient signal to noise ratios, Ts'o et al. had to average images over periods of time greater than 30 minutes per image. By comparison to all other known techniques for localizing cortical function, imaging intrinsic signals is a relatively non-invasive technique.

Mechanisms responsible for intrinsic signals are not well understood, possible sources of intrinsic signals include dilatation of small blood vessels, increased scattering of light from neuronal activity-dependent release of potassium, or from swelling of neurons and/or glial cells.

None of the experimental procedures provide a feasible and safe technique for real-time optical functional imaging of cortical activity in a surgical setting to accurately and precisely identify pathological/dysfunctional cortical areas during surgical procedures. Therefore, there is a need in the art for a procedure and apparatus for real-time optical imaging of cortical tissue which can precisely and quickly distinguish normal and abnormal cortical tissue. There is also a need in the art for developing a method that can image intrinsic signals with high spatial resolution, provide immediate images and be compatible with normal procedures in the operating room. This invention was made, in part, in an effort to satisfy this need.

SUMMARY OF THE INVENTION

The inventive method and device can be used to identify, grade and characterize solid tumors by imaging changes in electromagnetic absorption which reflects dynamics of dye perfusion through tissue. Further, the inventive method and device can be used to identify areas of neuronal activity during neurosurgical procedures. In particular, this invention can be used by a neurosurgeon intraoperatively to identify areas in the brain dedicated to important functions such as vision, movement, sensation, memory and language. Further

the present inventive method and device can be used to detect areas of abnormal cortical activity, such as epileptic foci. Lastly, the present invention can be used to identify individual nerves during neurosurgical procedures for tumor removal or anastomoses of severed nerves.

The present invention provides an apparatus for imaging tumor tissue or for real-time surgical imaging of cortical intrinsic signals or visualizing margins of solid tumor tissue, comprising, a means for obtaining a series of analog video signals, and a means for processing the analog video signals into either an averaged control image or a subsequent averaged image, a means for acquiring and analyzing a plurality of subsequent images and averaged control images to provide a difference image, wherein the difference image is processed to account for movement and noise and to amplify the changes across a dynamic range of the apparatus, and a means for displaying the difference image alone or superimposed over an analog video image.

The present invention further provides a method for imaging tumor margins and dimensions of solid tumor tissue located in an area of interest, comprising illuminating the area of interest with spatially even, intensive and non fluctuating light containing a wavelength of electromagnetic radiation (emr) (e.g., light) absorbed by a dye, obtaining a video signal of the area of interest as a series of frames and processing the series of frames into an averaged control image, administering the dye by bolus injection into vasculature circulating to the area of interest, obtaining a subsequent series of frames of the area of interest over time and processing the subsequent series of frames into a subsequent averaged image, comparing each subsequent averaged image with the averaged control image to obtain a series of difference images, and comparing each difference image for initial evidence of changed absorption within the area of interest which is the outline of solid tumor tissue, whereby tumor tissue is characterized by different kinetics of dye uptake compared to normal tissue and a temporally changed pattern of altered absorption of light as a result of increased vascularity of solid tumor tissue. A preferred dye is indocyanine green which has a broad absorption wavelength range and a peak absorption in the range of 730 nm to 840 nm.

The present invention further comprises a method in real-time for optically imaging functional areas of interest of the cortex in a patient comprising illuminating the area of interest with high intensity emr containing near-infrared wavelengths of emr, obtaining a series of frames of the area of interest and processing the series of frames into an averaged control image, administering a stimulus paradigm to the patient to stimulate an intrinsic signal, obtaining a series of subsequent frames of the area of interest over time and processing the subsequent series of frames into a subsequent averaged image, comparing each subsequent averaged image with the averaged control image to obtain a series of difference images, and comparing each difference image for initial evidence of an intrinsic signal within the area of interest, whereby an intrinsic signal is characterized by a change in emr reflectance properties manifest as a signal in the difference image.

The present invention further includes a method for imaging damage to a peripheral or cranial nerves comprising: (a) illuminating an area of interest with high intensity emr, wherein the area of interest comprises the peripheral nerve of interest including the suspected site

of damage and a region adjacent of the suspected site of damage; (b) obtaining a series of frames of the area of interest and processing the series of frames into an averaged control image; (c) Stimulating the peripheral or cranial nerve at a site adjacent of the suspected damaged site; (d) obtaining a series of subsequent frames at the time of stimulation and processing the series of subsequent frames into a subsequent averaged image; and (e) obtaining a difference image by subtracting the averaged control image from the subsequent averaged image to visualize the active region of the peripheral or cranial nerve, whereby nerve blockage is visualized as the point along the nerve where the intrinsic signal from the stimulated nerve abruptly ends, or is altered, attenuated or diminished in the difference image.

The present invention further includes a method for imaging tumor tissue surrounding or adjacent to nerve tissue to aid in selective resection of tumor tissue without destroying nerve tissue, comprising: (a) illuminating an area of interest with high intensity emr containing wavelength of emr absorbed by a dye; (b) obtaining a series of frames of the area of interest and processing the series of frames into an averaged control image; (c) stimulating the nerve; (d) obtaining a series of subsequent nerve frames and processing the subsequent series of nerve frames into a subsequent nerve averaged image; (e) obtaining a nerve difference image by subtracting the nerve averaged control image from the nerve subsequent averaged image to visualize the active nerve; (f) administering a dye into an artery feeding the area of interest; (g) obtaining a series of tumor subsequent frames and processing the tumor subsequent series of frames into a tumor subsequent averaged image; and (h) obtaining a tumor difference image by subtracting the tumor averaged control image from the tumor subsequent averaged image to create a tumor difference image that is capable of visualizing the tumor. Further, the tumor difference image and the nerve difference image can be superimposed upon each other to simultaneously visualize the relative locations of tumor tissue and nervous tissue.

The present invention further comprises a method for enhancing sensitivity and contrast of the images obtained from tumor tissue or intrinsic signal difference images, comprising: (a) illuminating an area of interest with a plurality of wavelengths of emr, wherein there is at least a first wavelength of emr and a second wavelength of emr; (b) obtaining a sequence of frames corresponding to each wavelength of emr, wherein a first sequence of frames is from the first wavelength of emr, the second sequence of frames is from the second wavelength of emr and so on; (c) processing the first sequence of frames into a first averaged control image, the second sequence of frames into a second averaged control image and so on; (d) stimulating for intrinsic signals or administering a dye for tumor tissue imaging; (e) obtaining a first series of subsequent frames using the first wavelength of emr, a second series of subsequent frames using the second wavelength of emr, and so on, and processing the first, second and so on subsequent series of frames into the first, second and so on subsequent averaged images, respectively; (f) obtaining a first difference image by subtracting the first averaged control image from the first subsequent averaged image and a second difference image by subtracting the second averaged control image from the second subsequent averaged image, and so on; and (g) obtaining an enhanced difference image by ratioing the first difference

image to the second difference image. Preferably, the monochromatic emr sources to illuminate the area of interest are from laser sources. This technique is useful for obtaining three dimensional information of the area of interest.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

The file of this patent application contains at least one drawing executed in color. Copies of the is patent with color drawings will be provided by the Patent and Trademark Office upon request and payment of the accessory fee.

FIG. 1, A2 illustrates a view of a human cortex just anterior to face-motor cortex with one recording (R) and two stimulating electrodes (s), and three sites (#1, #2, #3) where average percent changes were determined. The scale bar equals 1 cm. Averages of 128 images (4/sec) were acquired at 30 Hz and stored (1/sec). After acquiring 3-6 averaged control images (5 sec/image), a bipolar cortical stimulation evoked epileptiform afterdischarge activity.

FIG. 1, A2 shows the percentage difference image representing baseline activity between two controls before stimulation.

FIG. 1, A3 represents an image (4 sec average, 128 frames) obtained immediately after stimulation (4 sec, 6 mA). This stimulation was followed by the shortest of the four afterdischarge episodes (bottom left trace of FIG. 1B). The black cortical areas surrounding the cator areas represent regions where the optical changes are below baseline.

FIG. 1, A4 represents an image (4 sec average, 128 frames) obtained immediately after stimulation #4 (4 sec, 8 mA). This stimulation elicited the longest of the four afterdischarge episodes (bottom right trace of FIG. 1B).

FIG. 2 shows anterior-left, posterior-right, superior-top, and Sylvan fissure-bottom images of a human brain. Asterisks on the cortical surface serve as reference points between 2A1 and 2B1. The scale bar is again equal to 1 cm. In A 1, the numbered boxes represent sites where cortical stimulation evoked palate tingling (1), tongue tingling (2), speech arrest-Broca's areas (3,4) and no response (11, 12, 17). During three trials, an image was averaged (1 sec, 32 frames) and stored (1 sec) every 2 sec at rest, during 40 sec of tongue movement, and during recovery. The closed arrowhead shows when tongue movement began and open arrowheads when the movement stopped.

In FIG. 2, A2 a percentage difference image was taken from two cortical images before tongue movement. Open circle on the time line in FIG. 2C shows the times at which the averaged control images were taken. The image shows some noise about the baseline at rest. The magnitude of optical change for all images of FIG. 2 is represented by the pseudocolor scale.

FIG. 2, A3 shows the percentage difference image during tongue movement. The filled circle on time line FIG. 2C shows when this image was taken.

FIG. 2, B1 shows the cortical surface from the same patient as is shown in all images of FIG. 2 with the image moved anteriorly to incorporate more of the premotor cortex (asterisks at the same sites in A1-2 and B1-2). In other premotor sites (#5, #6, #7), no change in language was found during cortical stimulation. The patient viewed blank slides (control) and then named slides of objects which were presented every 2 seconds (2B2, 2B3). The percentage difference images during

naming comparing control image (2B2) to the optical changes during naming (2B3) are shown. Circles on the time line (2D) represent when the control image (B2, open circle) and naming image (B3, closed circle) were obtained. The maximum optical changes during naming are in the premotor region and not in the area activated by tongue movement without speech.

FIG. 2C shows the average percentage difference change from each of four areas with positive responses to cortical stimulation mapping. The changes in the four areas were repeatable and the largest change in the positive direction was from the palate sensory cortex (site #1). FIG. 2D shows the percentage difference changes from sites labeled in FIG. 2B1 and shows significant increases in the premotor cortex (sites #5, #6, and #7). Significant optical changes in the opposite direction occurred in the sensory cortex (site #1) and at site #3. The premotor region also showed temporal differences in activation., with the center area (site #6) increasing first and the regions above site #7 and below site #5 increasing later.

FIG. 3A shows an image of a cortical surface from a patient labeled for anterior (a), Sylvan fissure (sf), superior temporal gyrus (STG) and middle temporal gyrus (MTG). After the optical imaging, all cortical tissue to the left of the thick line was surgically removed. Sites #1 and #2 were identified as essential for speech (e.g., cortical stimulation blocked ability of subject to name objects). At site #3, one naming error in 3 stimulation trials was found. As the surgical removal reached the area labeled by the asterisks on the thick line, the patient's language deteriorated. All other unlabeled sites (FIG. 3A) had no errors while naming slides during cortical stimulation.

FIG. 3B shows an overlay of a difference image on the cortical analog image showing optical changes during naming (filled circle in FIG. 3C shows when image was collected). The magnitude of optical change is represented on the pseudocolor scale. The majority of the optical changes were in the region of essential and secondary language sites, but not in the more anterior cortex. Anteriorly, the optical changes were restricted to blood vessels.

The average percentage changes from two sites considered essential for language (sites #1 and #2) and secondary sites (#3, #4, and #5) are shown in FIG. 3C. All five sites show optical changes compared to six more anterior sites that were not critical for language function. FIG. 3D shows the average percentage changes from the six unlabeled boxes in FIG. 3A. There were no significant increases or decreases at these more anterior sites.

FIG. 4 shows a series of images from a patient having a low grade CNS tumor (astrocytoma, grade I). In FIG. 4A (upper left) the letters overlay the tumor as found by ultrasound, however tumors of this type and grade are notoriously difficult to distinguish from normal tissue once removal of the tumor begins. FIG. 4B (middle left) shows a difference image taken about 15 sec after dye administration (indocyanine green 1 ug/kg). FIG. 4C (lower left) shows the difference image about 30 sec after dye administration. The area of tumor tissue shows the first tissue staining. In this low grade tumor, all tissue (normal and abnormal) shows staining at 45 sec after dye administration as shown in FIG. 4D. FIG. 1E (middle right) is one minute after dye administration and FIG. 4F (lower right) is five minutes after dye administration showing complete dye clearance in this

low grade tumor. These data show that tumor tissue takes up dye faster. Therefore, it is possible to image even low grade tumors by the inventive apparatus.

FIG. 5 shows a series of images from the cortex of a patient with a malignant CNS tumor (glioblastoma; astrocytoma, Grade IV). FIG. 5A (upper left) shows the visual image of this malignant brain tumor which was most malignant in the center and to the right (as was shown by pathology slides available one week after surgery) but was not malignant to the left. FIG. 5B (middle left) is the difference image at 15 sec after dye injection showing tissue looking like a low grade tumor surrounded by normal tissue. However at 30 sec (FIG. 5C, lower left), the normal tissue to the left is slightly more visible but malignant tissue is even more intense. After one minute (FIG. 5D, upper right) the initial intense staining in tumor tissue is maintained, and even remains at 10 minutes after dye in FIG. 5E (lower right). Therefore, it is possible to not only image the location of tumor tissue, but to also grade the tumor with more malignant tumors retaining dye for a longer period of time than a lower grade tumor.

FIG. 6 is a series of images and difference images of an area of interest where a tumor was resected and biopsies were taken for multiple histological margin sampling. The area of interest was thought to be free of tumor during the procedure. Normally, in this size of a resection margin, only a single frozen sample would be taken for pathology analysis. In this case, while the surgeon was waiting for a pathology report based upon frozen sections (standard procedure), the images shown in FIG. 6 were obtained. FIG. 6A (upper left) is an analog image of the area of interest and FIG. 6B (upper right) shows the area of interest with histological markers. FIG. 6C (lower left) shows the post dye difference image taken at one minute and at 10 minutes (FIG. 6D, lower right). Both post dye difference images show a number of positive sites. This procedure is described in Example 4.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention provides an apparatus for imaging neuronal intrinsic signals in real time and for determining the presence, size, margins, dimensions, and grade of a solid tumor mass using a dye. The present invention further provides a method for functional mapping of the cortex in a patient by mapping intrinsic signals in real time, a method for determining the presence, size, location, and grade of solid tumor tissue in real time without the sampling errors of biopsies or the delay of and possible misdiagnosis of the pathologist's frozen section analysis, and a method for imaging nerve tissue that may be physically damaged or surrounded by and adjacent to tumor cells. The inventive methods employ a similar apparatus, comprising a series of components, including video input hardware and dedicated image processing hardware. The video input hardware is, for example, a photo-detector, such as a CCD (charge coupled device) camera (preferably a COHU 6510 CCD Monochrome Camera with a COHU 6500 electronic control box made by COHU Electronics San Diego, Calif.). In some cameras the analog signal is digitized 8-bits deep on an ADI board (analog-to-digital board). The dedicated image processing hardware is generally a "host computer". The host computer is any common general computer (such as an IBM PC type or Sun SPARC) that is interfaced with imaging hardware

and sends commands to the imaging hardware that direct data flow, computations, image acquisition and the like. Thus, the host computer directs the actions of the imaging hardware and provides the user interface.

Definitions

The following are definitions of commonly used terms and that are applied in this application according to their art-accepted usage, such as described in Inoue, *Video Microscopy* Plenum Press, New York, 1989.

Area of Interest is that area of tissue that comprises the subject of the image.

Arithmetic Logic Unit (ALU) is the hardware component that performs a variety of mathematical and logic operations (e.g., sum, difference, exclusive or, multiply by a constant, etc.) on the image signal at extremely high speeds.

Averaged Control Image is that updateable image that is the average of a series of real time images over a period of time.

Charge Coupled Device (CCD) is a photo-sensitive silicon chip used in place of a pickup tube in miniature video cameras.

Difference Image is the manipulated image created by adding or subtracting a subsequent image or a particular image in time from an averaged control image.

Frame is a single digitized array of single video pictures.

Frame Buffer is a piece of hardware that serves as a temporary storage of a frame, such as an averaged control image, a subsequent image or a difference image.

Geometric Transformation (Gonzalez and Wintz, *Digital Image Processing*, Addison-Wesley Publishing Co., Reading, 1987) generally modify spatial relationships between pixels in an image. For this reason, geometric transformations are often called "rubber sheet transformations" because they can be viewed as the process of "printing" an image on a sheet of rubber and stretching this sheet according to a predefined set of rules. As applied to video imaging, subsequent images can be viewed as having been distorted due to movement and it is desirable to "warp" these images so that they are similar to the control images. Geometric transformations are distinguished from "point transformations" in that point transformations modify a pixel's value in an image based solely upon that pixel's value and/or location and no other pixel values are involved in the transformation.

Image is a frame or composition of frames that have been altered after digitization, such as processing a sequence of frames into an averaged control image or a subsequent averaged image.

Intrinsic Signal means a detectable change in reflectance properties of neuronal tissue due to endogenous physiologic activity. Possible causes of intrinsic signals include, for example, membrane depolarization; glial cell swelling, ion flux across neuronal membranes, blood volume changes, blood oxygenation (hemoglobin to oxyhemoglobin), tissue oxygenation and combinations thereof.

Linear Histogram Stretch is a transformation in which the values between two points (high, low) are reappeal to cover a full range of values (i.e., dynamic range). For example, the low value is mapped to zero, the high to 255, and the intermediate values are mapped to linearly increasing brightness values. All brightness values below the low value are set to zero and all

brightness values above the high value are set to the high value.

Look Up Table (LUT) is a piece of hardware that functions to store memory that directs conversion of the gray value of each pixel into another gray value or color that is specified by the LUT. The LUT can be programmed to manipulate image contrast, threshold an image, apply pseudocolor and the like (such as a convenient implementation method for point processing algorithms). In the case of the present invention, the LUTs are, preferably, implemented for speed on an ADI and/or ALU boards.

Paradigms cause a change in electrical activity of an area of cortical tissue dedicated to a specific function (e.g., speech, language, vision, etc.) thus causing an increase or decrease in what is called an intrinsic signal.

Pixel is the individual units of image in each frame of the digitized signal. The intensity of each pixel is linearly proportional to the intensity of illumination before signal manipulation and corresponds to the amount of emr (photons) being reflected from a particular area of tissue corresponding to a particular pixel. It should be noted that an image pixel is the smallest unit of a digital image and its output intensity can be any value. A CCD pixel is the smallest detecting element on a CCD chip and its analog output is linearly proportional to the number of photons it has detected.

Processed Difference Image is the raw difference image that has been processed or manipulated to filter out noise or movement and increase the dynamics of effect of different pixel values to illustrate events in the area of interest.

Tumor Margin is the area where the surgeon has resected the tumor.

Apparatus

The inventive apparatus is made as one unit or a group of components. The first component is a high intensity emr source. The emr source is for illuminating the cortical surface or area of interest, such as an area suspected of having solid tumor tissue. Different intrinsic signals can be illuminated by different wavelengths of emr. Moreover, the emr source must include the wavelengths of emr absorbed by the dye for the tumor imaging method. For example, when the dye is indocyanine green, preferred wavelengths are from about 730 nm to about 840 nm. For other dyes, the preferred wavelengths of illuminating emr should include wavelengths at which the dye absorbs. The term emr instead of light is used because it is also possible to image in the infrared region of the spectrum outside of the visible light range.

When determining intrinsic signals from the cortex, reflected emr can be filtered to allow for video imaging of only selected wavelengths of emr. Preferred selected wavelengths of emr include, for example, from about 500 nm to about 900 nm, or most preferably, the near infrared spectrum. Generally, longer wavelengths (e.g., approximately 800 nm) measure deeper cortical activity.

Moreover, that part of the infrared spectrum in an invisible range of between 0.75 to about 1000 micrometers allows for a determination of intrinsic signals through dura and skull, thereby allowing for a determination of intrinsic signals through intact skull and dura and without the risks associated with neurosurgery. When using this range of far infrared wavelengths, an IR detector is a different device than a CCD chip for a

visible analog camera. IR detectors are made from materials such as indium arsenide, germanium and mercury cadmium telluride rather than silicon. IR detectors must be cryogenically cooled in order that they be sensitive to small changes in temperature. For example, one IR imaging system is an IRC-64 infrared camera (Cincinnati Electronics, Mason Ohio).

As heat reaches the surface of the cortex, it emits electromagnetic radiation in the range of about 3-5 or 8-14 microns. Others have attempted to image this emitted radiation (see, for example, Gorbach et al., "Infrared Mapping of the Cerebral Cortex" *Thermography* 3:108, 1989). However, according to the present invention these emitted wavelengths are filtered out and an IR detector instead of a CCD detector is used. An IR emr source is, for example, a Tunable IR Diode Laser from Laser Photonics, Orlando, Fla. The imaged wavelengths are different from body heat and images of changes in absorption and emr scattering can be obtained according to the inventive method. In the case of tumor images through intact skin and possibly bone, a dye that absorbs in the IR can be used (e.g., indocyanine green). Other useful dyes include, for example, Photofrin® derived from a hematoporphyrin derivative (HPD) and absorbs light at 630 nm, mono espatyl chlorin-36 (NPe6, Nippon Petrochemical, Japan), benzoporphyrin derivative (BPD, Quadra Logic Vancouver BC), and combinations thereof.

Preferably, the emr source, is a high intensity, broad spectrum emr source, such as a tungsten-halogen lamp and a cutoff filter for all wavelengths below 695 nm. Most preferably, the emr source is directed to the area of interest by a fiber optic means. An example of such a emr source is a fiber optic emr passing through a beam splitter, controlled by a D.C. regulated power supply (Lambda, Inc.) and passed through a 695 nm longpass filter.

The inventive apparatus includes a means for obtaining an analog video signal of the cortex or area of interest. A preferred device for obtaining an analog video signal is a charge coupled device (CCD) video camera which creates an output video signal at 30 Hz having, for example, 512 horizontal lines per frame using standard RS 170 convention. One such device is a CCD-72 Solid State Camera (Dage-MTI Inc., Michigan City Ind.) and another such device is a COHU 6500 (COHU, San Diego Calif.).

The area of interest must be evenly illuminated to better adjust the signal over a full dynamic range. If there is uneven illumination in the area of interest, it will limit the dynamic range. Preferably a high intensity and diffuse or even lighting system is used. Techniques to obtain even illumination over the area of interest include, for example, diffuse lighting, image processing algorithms to compensate for uneven illumination on a digitized image, a constant shade gray image marker point in the area of interest as a control point, a wavelength cutoff filter in front of the camera and/or emr source, or combinations thereof. Preferably, a regulated power supply will prevent fluctuations in emr sources. A footplate system is an optical glass (sterile) contacting and covering the area of interest to provide a flatter contour. The footplate also retards tissue movement.

The analog signal must first be adjusted to maximize sensitivity of detection (at the level of the analog signal and before digitizing) to amplify the signal and spread the signal across the full possible dynamic range, thereby increasing sensitivity of the apparatus. 60 Hz

noise (such as from A.C. power lines) is filtered out in the camera control box by an analog filter. Such adjustments further serve to enhance, amplify and condition the analog signal from the CCD. One means for properly adjusting the input analog signal is to digitize this signal at video speed (30 Hz), and view the area of interest as a digitized image that is converted back to analog.

It is important to compensate for small movements of tissue or the patient during the imaging process. Larger patient-movements require a new orientation of the camera and obtaining a new averaged control image. Compensating for movement can be done by mechanical or computational means or both. Mechanical means include, for example, placing a footplate over the area of interest wherein the footplate comprises sterilized optical quality glass in a framing device, and/or securing the camera and possibly the emr source to the skeletal frame of the patient, and combinations of both. When the camera and/or emr source are attached to the skeletal structure of the patient, any patient movements will not effect the image because the camera and illumination source will remain in a constant orientation to the area of interest. The advantage of the footplate is that it retards tissue movement caused by arterial pressure and/or respiration and prevents changes due to evaporation of cerebrospinal fluid. Computational means include, for example, using functional control points in the area of interest and triangulation-type algorithms to compensate for movements of these control or tie points, and "image warping" techniques whereby each subsequent image is registered geometrically to the averaged control image to compensate for movement, and combinations of both techniques. The image warping technique is described in, for example, Wolberg, "Digital Image Warping" IEEE Computer Society Press, Los Alimitos, Calif. 1990. The image warping technique can further indicate when movement has become too great for the averaged control image and that a new averaged control image must be taken. Control points can be placed directly in the area of interest, such as directly on the cortical surface for intrinsic signal analysis. For example, Goshtasby ("Piecewise Linear Mapping Functions for Image Registration" in *Pattern Recognition* vol. 19 pp 459-66, 1986) describes a method whereby an image is divided into triangular regions using control points. A separate geometrical transformation is applied to each triangular region to spatially register each control point to a corresponding triangular region in a control image.

The analog video signal is continuously fed into a means for processing the signal. One such means for acquiring and analyzing data is an image analyzer (e.g., Series 151 Image Processor, Imaging Technologies, Inc. Woburn Mass.). An image analyzer can receive and digitize an analog video signal with an analog to digital interface and perform such a function at a frame speed of about 1/30th of a second (e.g., 30 Hz or "video speed"). Processing the signal involves first digitizing the signal into a series of pixels or small squares assigned a value (in a binary system) dependent upon the number of photons (i.e., quantity of emr) being reflected off tissue from the part of the area of interest assigned to that pixel. For example, in a standard 512×512 image from a current technology CCD, there would be 262,144 pixels per image. In an 8 bit system, each pixel is represented by 8 bits. One can cool the CCD to reduce thermal noise.

Preferably, the signal processing means includes a programmable look-up table (e.g., CMIS0-LUT16, Imaging Technology, Woburn Mass.) initialized with values for converting gray coded pixel values, representative of a black and white image, to color coded values based upon the intensity of each gray coded value. This provides image enhancement via an image stretch. An image stretch is a technique whereby the highest and lowest pixel intensity values used to represent each of the pixels in a digital image frame are determined over a region of the image frame which is to be stretched. Stretching a selected region over a larger range of values permits, for example, easier identification and removal of relatively high, spurious values due to noise (e.g., glare).

Each image received is stored in the frame buffer, preferably within the context of a CPU as a frame of data elements represented, for example, as a 512 by 512 array of pixels. Each pixel has a 8 bit value corresponding to one of 256 levels of gray.

The processing means further includes a plurality of frame buffers having frame storage areas for storing frames of digitized image data received from the A/D interface. The frame storage area comprises at least one megabyte of memory space, and preferably at least 8 megabytes of storage space. An additional 16-bit frame storage area is preferred as an accumulator for storing processed image frames having pixel intensities represented by more than 8-bits. The frame buffers are temporary fast memory. The processing means should include at least three frame buffers. One is for storing the averaged control image, another is for storing the subsequent image and a third is for storing a difference image between the averaged control image and the subsequent image.

The processing means further includes an arithmetic logic unit (ALU) (e.g., ALU-150 Pipeline Processor) for performing arithmetical (add, subtract, etc.) and logical (and, or, etc.) functions from data located in one or more frame buffers. An ALU is a fast processor. The ALU allows for image averaging in real time. For example, a newly incoming digitized image can be sent directly to the ALU and is added or subtracted to an averaged control image sitting in a frame buffer by passing both images through an ALU and adding them. After a last image is added, this 16 bit result can be sent again through an ALU which will divide this result by a constant (i.e., the total number of images). The output from the ALU is either stored in a frame buffer, sent for more processing, or used as its own input and again combined with another image.

It is important to compensate for patient movement in the digitized images before subtracting such images. Thus, geometric transformations are applied to the images so that they are geometrically registered prior to subtraction.

The inventive apparatus can enhance processing speed to create a difference frame by adding a real time modular processor or faster CPU chip to the image processor. For example, one real time modular processor is a 150 RTMP-150 Real Time Modular Processor (Imaging Technology, Woburn Mass.).

The processing means further may include a means for performing a histogram stretch of the difference frames (e.g., Histogram/Feature Extractor HF 151-I-V module, Imaging Technology, Woburn Mass.) to enhance each difference image across its dynamic range. A linear histogram stretch is described in, for example,